



UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**TRATAMENTOS À BASE DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM
EQUINOS**

VANESSA PAMPLONA SILVA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia
de Andrade Pimenta Tilley

Doutor Luís Ressano Garcia Pardon
Lamas

Major Médico Veterinário Ricardo
Manuel Martins de Matos

ORIENTADOR

Major Médico Veterinário Ricardo
Manuel Martins de Matos

CO-ORIENTADORA

Doutora Maria Rita Martins Garcia da
Fonseca

2017

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**TRATAMENTOS À BASE DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM
EQUINOS**

VANESSA PAMPLONA SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia
de Andrade Pimenta Tilley
Doutor Luís Ressano Garcia Pardon
Lamas
Major Médico Veterinário Ricardo
Manuel Martins de Matos

ORIENTADOR

Major Médico Veterinário Ricardo
Manuel Martins de Matos

CO-ORIENTADORA

Doutora Maria Rita Martins Garcia da
Fonseca

2017

LISBOA

À minha família...

AGRADECIMENTOS

A toda a equipa da Clínica Veterinária Militar de Equinos da Escola das Armas em Mafra, que fizeram com que seis meses de estágio se tornassem tão enriquecedores para o meu futuro, ao meu orientador Major Ricardo Matos, Tenente Coronel Ana Teresa Silva, Major Francisco Medeiros, Capitão Gonçalo Paixão e Capitão David Couto.

À minha co-orientadora, Professora Doutora Rita Fonseca, que foi incansável na elaboração desta dissertação.

A todos os meus professores, que tiveram um papel essencial na minha formação.

À turma D, que tornou estes 6 anos, sem dúvida, especiais.

À Joana Barbosa, Mariana Dias e Tânia Campeão que marcaram o meu percurso nesta faculdade duma forma especial.

À Maria Inês, que tornou as dúvidas, de última hora e já a más horas, esclarecidas.

À Nazaré, que tornou esta “saída” de casa mais fácil.

Aos colegas de estágio em Mafra, Inês, Sofia, Augusto e Jorge com os quais foi possível desenvolver um espírito de equipa, entreaajuda e companheirismo.

A toda a minha família, Mãe, Pai, Michelle e Gonçalo que fizeram com que tudo isto fosse possível.

A todos os animais que ajudaram na minha formação e a todos aqueles que ainda vão contribuir para isso.

Tratamentos à base de Plasma Rico em Plaquetas em Equinos

Resumo

O tratamento à base de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) consiste em fornecer fatores de crescimento, quimiotaxia e suporte aos tecidos. Este estudo diz respeito ao tratamento, à base de PRP, de lesões tendinosas e ligamentares da região da canela de equinos, que se apresentaram em consulta, na Clínica Veterinária Militar de Equinos, em Mafra. Cada equino foi avaliado seguindo uma abordagem clínica, incluindo exame dinâmico, realização de anestésias diagnósticas e exames complementares. Após o diagnóstico, o PRP foi infiltrado, de forma ecoguiada, tendo sido a quantidade infiltrada variável consoante a quantidade de PRP obtido, e o grau da lesão. O objetivo deste estudo foi o de avaliar: 1) a variação longitudinal, após o tratamento com PRP, bem como 2) a repetibilidade da medição destes parâmetros. Foram selecionados 10 parâmetros mensuráveis através da imagem ecográfica da lesão diagnosticada. Os resultados indicam que a evolução dos parâmetros estudados, nem sempre foi compatível com a regressão clínica da lesão ao longo do tempo. No entanto, a % da área da lesão e o comprimento da lesão destacaram-se como as mais consistentes com a involução da lesão, seguindo-se o espessamento da estrutura anatómica. Em relação à repetibilidade das medidas estudadas, o parâmetro mais repetível foi a área de secção transversal da estrutura avaliada e o espessamento do ligamento/ tendão avaliado, na secção longitudinal, os parâmetros que apresentaram maior repetibilidade.

Palavras-chave: equinos, PRP, ecografia, lesão, tratamento

Platelets rich plasma treatment in Horses

Abstract

Platelet-Rich Plasma (PRP) therapy provides tissue support by supplying the tissues with growth factors and inducing chemotaxis. The present study concerns using PRP therapy in the treatment of tendinous and ligamentous lesions of the cannon bone region in horses, admitted to the Army Veterinary Equine Clinic, in Mafra. Each horse was assessed following a clinical approach, including static examination, dynamic examination, diagnostic anesthesia and complementary diagnostic exams. According to the diagnosis, an echo guided PRP injection was performed. The injected quantity depended on the quantity of PRP obtained and the lesion's degree of severity.

The aim of this study was to evaluate: 1) the longitudinal variation, after treatment using PRP, as well as 2) the repeatability of these parameters' measurement. Ten measurable parameters were selected from the ultrasound image of the diagnosed lesion. The results indicate the evolution of the parameters subjected to analysis has not always been consistent with the lesion's clinical regression over time. However, the % of the lesion area and length of the lesion were the parameters with better consistence with the regression of the lesion, followed by the thickness of the structure, in the longitudinal section. As for the repeatability of the measurement, the most consistent parameter was the cross sectional area of the evaluated structure, and thickening of the ligament/tendon subjected to study, while evaluated in a longitudinal plane.

Key words: horses, PRP, ultrasound, lesion, treatment

Índice	
AGRADECIMENTOS	ii
Resumo	iii
Abstract	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	ix
ÍNDICE DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
I. DESCRIÇÃO DE ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
1. Características dos Tendões e Ligamentos da região da canela	2
1.1. Anatomia e histologia.....	2
1.2. Biomecânica dos principais tendões e ligamentos	4
2. Principais lesões associadas aos tendões e ligamentos da região da canela	5
2.1. Predisposição para lesões tendinosas e ligamentares.....	5
2.2. Abordagem diagnóstica em caso de claudicação.....	6
2.3. Parâmetros de avaliação ecográfica dos tendões e ligamentos da região da canela.....	8
2.4. Possíveis abordagens terapêuticas	16
2.5. Mecanismo de reparação das lesões	20
3. PRP- Plasma Rico em Plaquetas.....	20
3.1. Mecanismo de ação do PRP	21
3.1.1. Importância das plaquetas.....	21
3.1.2. Fatores de Crescimento.....	22
3.2. Tratamento à base de PRP em diferentes tipos de tecidos	24
3.2.1. Utilização em lesões tendinosas e ligamentosas	25
3.2.2. Utilização em lesões musculares, lesões articulares, lesões ósseas e lesões cutâneas	25
3.3. Vantagens e desvantagens do PRP	26
3.4. Obtenção de PRP	27
3.4.1. Características dos métodos de obtenção	28
3.5. Procedimento de administração de PRP.....	30
4. Imagiologia como auxiliar no tratamento à base de PRP.....	31
III. APRESENTAÇÃO DOS CASOS CLÍNICOS	32

Objetivos	32
1. Materiais e Métodos	32
1.1. Critérios de inclusão da amostragem	32
1.2. Métodos e parâmetros da avaliação ultrassonográfica	32
1.3. Abordagem clínica no diagnóstico e caracterização da claudicação	35
1.4. Protocolo para obtenção e administração de PRP utilizado	36
1.5. Plano de tratamento e reavaliação da lesão diagnosticada	38
1.6. Protocolo de reabilitação utilizado após tratamento com PRP	39
1.7. Repetibilidade das medidas selecionadas.....	39
1.8. Análise estatística	39
2. Resultados	40
2.1. Caracterização da amostra e anamnese.....	40
2.2. Abordagem clínica no diagnóstico e caracterização da claudicação	41
2.3. Exames complementares por Imagiologia Diagnóstica e diagnóstico final.....	42
2.4. Plano de tratamento da lesão diagnosticada.....	46
2.5. Evolução das medidas selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão.....	48
2.6. Repetibilidade das medidas selecionadas.....	56
3. Discussão.....	60
4. Conclusão.....	74
IV. BIBLIOGRAFIA.....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura microscópica do tendão.....	3
Figura 2- Divisões ecográficas do carpo e metacarpo em secção transversal	12
Figura 3- Divisões ecográficas do metacarpo em secção longitudinal.....	12
Figura 4- Divisões ecográficas do tarso e metatarso em secção transversal	13
Figura 5- Administração ecoguiada do PRP.....	31
Figura 6- Divisões das regiões anatómicas do carpo e metacarpo em A secção transversal e B secção longitudinal	33
Figura 7- Divisões das regiões anatómicas do tarso e metatarso em secção transversal	33
Figura 8- Esquema referente aos parâmetros na secção transversal.....	35
Figura 9- Esquema referente aos parâmetros na secção longitudinal.....	35
Figura 10- Colheita de sangue da veia jugular	37
Figura 11- Suporte com os tubos de citrato após colheita de sangue	37
Figura 12- Tubos na centrífuga	37
Figura 13- Após a primeira centrifugação, a retirar 50% do sobrenadante junto à camada flogística	38
Figura 14- Após a segunda centrifugação, a retirar 25% do conteúdo do fundo do tubo	38
Figura 15- Ecografia de diagnóstico da lesão na origem do LSB do MPD (A) e MPE (B), diagnosticada aquando da comparação do MPD com o MPE	43
Figura 16- Ecografia correspondente ao diagnóstico de lesão do ramo medial do LSB do MAD.....	43
Figura 17- Ecografia de diagnóstico de lesão do LA-TFDP do MAD	43
Figura 18- Ecografia de diagnóstico de lesão do corpo do LSB MPE	44
Figura 19- Ecografia de diagnóstico da lesão da origem e corpo do LSB do MAD (A) e MAE (B).....	44
Figura 20- Ecografia de diagnóstico de lesão do corpo do LSB no MAD	45
Figura 21- Ecografia de diagnóstico de lesão do TFDS no MAE	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Curva de tensão-deformação do tendão	4
Gráfico 2(A-F): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão na “Origem do ligamento suspensor do boleto (LSB) do membro posterior direito (MPD) e membro posterior esquerdo (MPE), para cada região avaliada”.	49
Gráfico 3 (A-E): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Ramo medial do ligamento suspensor do boleto (LSB) do membro anterior direito (MAD) para cada região avaliada”	50
Gráfico 4 (A-E): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Ligamento acessório do tendão flexor digital profundo (TFDP) do membro anterior direito (MAD) para cada região avaliada”	51
Gráfico 5 (A-C): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Corpo do ligamento suspensor do boleto (LSB) do membro posterior esquerdo (MPE) para cada região avaliada”.	52
Gráfico 6 (A-F): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão na “Origem e corpo do ligamento suspensor do boleto (LSB) do membro anterior direito (MAD) e membro anterior esquerdo (MAE) para cada região avaliada”.	53
Gráfico 7 (A-E): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Corpo do ligamento suspensor do boleto (LSB) do membro anterior direito (MAD) para cada região avaliada”	54
Gráfico 8 (A-E): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Tendão flexor digital superficial (TFDS) do membro anterior esquerdo (MAE) para cada região avaliada”.	55

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Sistema de pontuação da ecogenicidade	9
Tabela 2- Sistema de pontuação do alinhamento das fibras	10
Tabela 3- Medidas e respetiva definição, metodologia e categorização quando aplicável	33
Tabela 4- Protocolo de reabilitação da Clínica Veterinária Militar de Equinos.....	39
Tabela 5- Caracterização da amostra e anamnese	40
Tabela 6- Abordagem clinica no diagnóstico e caracterização da claudicação.....	41
Tabela 7- Exames complementares por Imagiologia Diagnostica e diagnóstico final...	42
Tabela 8- Plano de tratamento da lesão diagnosticada	46
Tabela 9- Realização das medições dos parâmetros seleccionados na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão por região anatómica em cada cavalo.....	48
Tabela 10- Repetibilidade das medidas seleccionadas.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

-	Ausente
μ	Micrómetro
μL	Microlitro
%	Porcentagem
+	Positivo/Presente
AAEP	American Association of Equine Practitioners
aFGF ou FGF-1	Fator de crescimento fibroblástico ácido
AH	Ácido hialurônico
AID	Articulação interfalângica distal
AMF	Articulação metacarpo-falângica
BAPN	Beta-aminopropionitrile
bFGF ou FGF-2	Fator de crescimento fibroblástico básico
BMP	Proteína morfogénica óssea
CCE	Concurso Completo de Ensino
cm	Centímetros
cm ²	Unidade da área em cm ²
COMP	Proteína da matriz oligomérica da cartilagem
CSA	Cross sectional area (área de secção transversal)
CSO	Concurso de salto de obstáculos
DMSO	Dimetilsulfóxido
ECGF	Fator de crescimento das células epiteliais
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EGFR	Recetor do fator de crescimento epidérmico
E-PET	Equine Platelet Enhancement Therapy
F	Fêmea
FAS	Fibre alignment score (Padrão de alinhamento das fibras)
FGF	Fator de crescimento fibroblástico
GAGPSs	Glicosaminoglicanos polissulfatados
HGF	Fator de crescimento dos hepatócitos

IGF(1/2)	Fator de crescimento semelhante à insulina(1/2)
IL-1	Interleucina-1
J	Joules
kDa	Quilodaltons
Kg	Quilograma
KGF	Fator de crescimento dos queratinocitos
LA	Ligamento acessório
LA-TFDP	Ligamento acessório do tendão flexor digital profundo
LA-TFDS	Ligamento acessório do tendão flexor digital superficial
LSB	Ligamento suspensor do boleto
M	Macho
MAD	Membro anterior direito
MAE	Membro anterior esquerdo
MEC	Matriz extracelular
mg	Miligrama
mL	Mililitro
MMPs	Metaloproteinases de matriz
MPD	Membro posterior direito
MPE	Membro posterior esquerdo
N	Negativo
P	Positivo
PDGF	Fator de crescimento derivado das plaquetas
PGs	Prostaglandinas
PPP	Plasma pobre em plaquetas
PRP	Plasma rico em plaquetas
PSA	Puro Sangue Árabe
PSL	Puro Sangue Lusitano
RM	Ressonância Magnética
TAC	Tomografia Axial Computorizada
TEDC	Tendão extensor digital comum

TFDP	Tendão flexor digital profundo
TFDS	Tendão flexor digital superficial
TGF- β	Fator de crescimento transformador β
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
TXA2	Tromboxano A2
USG	Ultrassonografia
UTC characterisation)	Caracterização ultrassonográfica dos tecidos (ultrasonographic tissue
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
wbc	Células sanguíneas brancas

I. DESCRIÇÃO DE ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO

O meu estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária decorreu na Clínica Veterinária Militar de Equinos na Escola das Armas em Mafra, do dia 3 de Outubro a 31 de Março num total de 896 horas. Durante este estágio foi possível adquirir competências em diversas áreas, com maior ênfase na área de medicina desportiva. Em relação à medicina desportiva participei ativamente no exame de claudicação de diversos animais começando pelo exame estático, dinâmico e posteriores anestésias diagnósticas que permitiram concluir qual a zona lesionada, passando de seguida para o respetivo exame radiográfico, ecográfico e ainda venografia. Estes animais foram tratados por via intra-articular ou por via sistémica variando de caso para caso e passaram posteriormente por um período de repouso ativo ou mesmo repouso total consoante o caso em questão. Foram ainda diagnosticados casos de lombalgia sendo estes tratados com recurso à mesoterapia. Como um dos tratamentos em casos de desmites/tendinites recorreu-se à infiltração de PRP nas lesões em questão, sendo que o princípio deste tratamento consiste em fornecer fatores de crescimento às zonas lesionadas do ligamento/tendão, em concentrações 3 a 5 vezes superiores às concentrações fisiológicas e assim diminuir o tempo de recuperação da lesão. A área odontológica foi outra área na qual foi possível participar, ao nível das correções dentárias. Nos diversos casos de síndrome de abdómen agudo, na sua maioria cólicas espasmódicas, algumas impactações da flexura pélvica e um caso de enterite, participei ao nível do exame de estado geral, palpação rectal, entubação nasogástrica, bem como administração de fármacos e ainda como circulante e anestesista em diferentes casos que foram para cirurgia. Foram feitas algumas cirurgias como artroscopias, artrodese da articulação interfalângica distal, neurectomia do nervo digital palmar, orquiectomia e encerramento do osso nasal craniano e tecido cutâneo da região facial após uma dilaceração por trauma, nas quais participei na preparação cirúrgica do animal, fui participante ativa em modo de rotação pelos diferentes casos clínicos e ajudei ao nível da anestesia, bem como na execução de uma orquiectomia. Foi ainda possível assistir a cobrições bem como recolha de sémen com recurso ao manequim. Ao longo do estágio executei várias administrações de fármacos por via oral, endovenosa, intramuscular, de vacinas, desparasitações, bem como limpeza de feridas, suturas, limpeza de abscessos, tratamento de micoses, colocação de pensos e tratamentos de lesões oculares traumáticas.

No serviço de siderotécnica local foi possível acompanhar diversas ferrações, normais e ortopédicas como a colocação de palmilhas, colocação de ferradura de ramos afilados, de ramos alargados “cebolos”, ferraduras em coração em caso de laminites e ferraduras recuadas.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

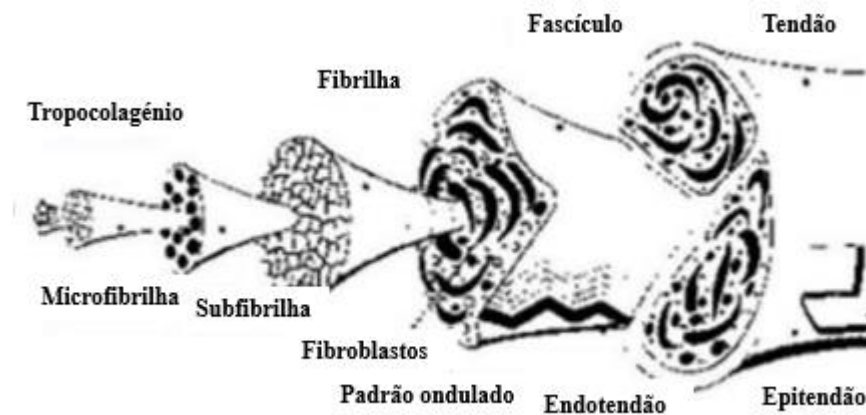
1. Características dos Tendões e Ligamentos da região da canela

1.1. Anatomia e histologia

Os tendões e ligamentos correspondem a um tecido conjuntivo fibroso denso, em que os fibroblastos estão organizados de forma precisa, estando estes embebidos numa matriz extracelular (MEC), altamente organizada, rica em colagénio (Dahlgren, 2007). A referida MEC tem dois componentes principais, a substância fundamental amorfa e os componentes fibrosos. Esta porção fibrosa é composta por colagénio e elastina, sendo que esta elastina tem uma importante contribuição para a elasticidade dos tecidos e contribuindo apenas com 1 a 2% do peso da matéria seca dos tendões e ligamentos (Goodship, Birch, & Wilson, 1994; Woo, An, & Arnoczky, 1994). Os proteoglicanos correspondem a menos de 5% do peso da matéria seca dos tendões e ligamentos, no entanto tem um papel fundamental no que diz respeito às interações entre as células e entre as células e matriz, bem como na fibrilogénese do colagénio, no controlo do diâmetro das fibrilhas colagénicas e na homeostasia dos ligamentos e tendões (Birch, 1993; Birch, Bailey, & Goodship, 1998; Vogel, Keller, Lenhoff, Campbell, & Koob, 1986).

Os tendões e ligamentos são tecidos moles semelhantes, que desempenham funções relacionadas mas distintas, com aparência semelhante ao nível da ultraestrutura e a nível histológico, mas com diferenças nas características a nível organizacional, celular, bioquímico e molecular. Os tendões são necessários para suportar as altas forças de tensão, sendo a força gerada pela contração muscular transferida do tendão para o movimento esquelético, fornecendo assim suporte ao esqueleto e aumentando a eficiência da locomoção armazenando e libertando energia. Quanto aos ligamentos, estes alinham e estabilizam os ossos adjacentes e fornecem resistência passiva ao movimento, estando sujeitos a forças de várias direções dependendo da amplitude de movimento da articulação (Rumian, Wallace, & Birch, 2007).

Figura 1- Estrutura microscópica do tendão (adaptado de Sharma e Maffulli, 2005)



As fibrilhas de colagénio foram anteriormente consideradas como a unidade primária da força do tendão, no entanto, as ligações covalentes intra e interfibrilhas do colagénio bem como as electroestáticas a partir das proteínas não colagénicas tem sido consideradas, recentemente, de grande importância no que diz respeito às propriedades biomecânicas dos tendões (Dowling, Dart, Hodgson, & Smith, 2000). As fibras de colagénio estão organizadas em feixes paralelos ao longo das linhas de tensão, estando os fibroblastos em forma de eixo dispostos longitudinalmente entre os feixes das fibrilhas de colagénio, formando uma rede através de extensões citoplasmáticas, que envolvem os feixes das fibrilhas de colagénio permitindo assim um meio de comunicação de célula para célula e de célula para a MEC (Dahlgren, 2007).

Vários estudos têm demonstrado que a composição da matriz básica difere entre o tendão flexor digital superficial (TFDS) e o tendão extensor digital comum (TEDC), com maior celularidade, conteúdo em glicosaminoglicanos, conteúdo em água e colagénio tipo III medidos no TFDS (Batson et al., 2003; Birch, Thorpe, & Rumian, 2013).

Um estudo inicial relatou que a idade não tinha efeito a nível celular, no conteúdo total de colagénio ou nos níveis de glicosaminoglicanos no TFDS, no entanto verificou-se um aumento dos níveis de colagénio tipo III no núcleo do tendão (Birch, Bailey, Bailey, & Goodship, 1999). O colagénio tipo II está presente nas inserções e regiões onde os tendões mudam de direção à volta duma proeminência óssea, refletindo a natureza fibrocartilágnea da matriz nesta região que suporta as forças compressivas bem como tensionais. O colagénio tipo III, IV e V está confinado às membranas basais e ao endotendão (Silver et al., 1983; Goodship, 1993; Goodship, et al., 1994; Perez-Castro & Vogel, 1999). Quando ocorrem

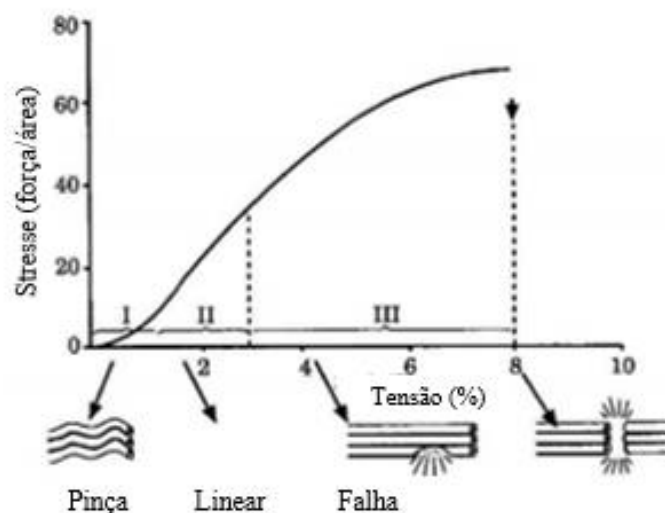
alterações ao nível do conteúdo colagénico, bem como na distribuição do mesmo, as propriedades biomecânicas dos ligamentos e tendões lesionados ficam afetadas (Woo, Abramowitch, Kilger, & Liang, 2006). Nos tendões normais, o colagénio em maior abundância é o colagénio tipo I (Williams, Heaton, & McCullagh, 1980), sendo que também está presente colagénio tipo II, III, IV e V embora em quantidades menores e em localizações específicas.

1.2. Biomecânica dos principais tendões e ligamentos

A biomecânica é conhecida como o estudo dos sistemas biológicos através de métodos mecânicos e físicos. A locomoção diz respeito ao movimento do corpo como consequência da formação da força de reação do solo quando o casco é impulsionado contra o solo, sendo a análise dos andamentos um ramo da biomecânica que descreve a mecânica locomotora (Clayton, 2016).

Os membros anteriores são um pouco como pilares devido ao alinhamento do antebraço e do metacarpo aquando do suporte do peso, refletindo assim o seu papel de suporte da maioria (57% a 58%) da massa corporal (Hobbs & Clayton, 2013).

Gráfico 1- Curva de tensão-deformação do tendão (adaptado de Sharma e Maffulli, 2005)



Em repouso, as fibras e fibrilhas do colagénio exibem um padrão ondulado (Diamant, Keller, Baer, Litt, & Arridge, 1972). A parte inicial da curva (“região da pinça”), onde é aplicada uma tensão até 2%, representa o achatamento do padrão de ondulação (Butler, Grood, Noyes, & Zernicke, 1978), sendo que a partir deste ponto o tendão deforma-se de forma linear devido a deslizamentos intramoleculares da tripla hélice de colagénio e as fibras tornam-se mais

paralelas (Mosler et al., 1985). Se a tensão permanecer abaixo de 4% o tendão comporta-se de forma elástica, voltando ao seu comprimento original aquando da ausência de tensão (Curwin & Stanish, 1984). As falhas microscópicas ocorrem quando a tensão excede 4% e acima de 8-10% ocorrem falhas macroscópicas por deslizamento molecular (Sasaki, Shukunami, Matsushima, & Izumi, 1999).

No caso de ocorrer uma lesão dos tecidos moles, pequenas mudanças nos parâmetros ecográficos, como na ecogenicidade, no tamanho e padrão das fibras, estão associadas a uma mudança relativamente grande nos parâmetros associados com a força biomecânica (Gillis, 1997a).

2. Principais lesões associadas aos tendões e ligamentos da região da canela

Das lesões músculo-esqueléticas as lesões dos tendões é uma das mais comuns, nos cavalos a competir em todas as disciplinas, com uma elevada prevalência em corridas com cavalos puro sangue inglês (Ely, Verheyen, & Wood, 2004; Pinchbeck et al., 2004; Lam, Parkin, Riggs, & Morgan, 2007; Murray, Dyson, Tranquille, & Adams, 2006). Uma tendinite diz respeito a uma micro rotura das fibras de colagénio devido a um uso excessivo e repetido e cicatrizes. Ocorrida a tendinite, a função fica negativamente afetada e aumenta o risco de reincidência. Além disso, devido à fraca vascularização, os tendões tem fraca capacidade de cicatrização e cicatrizam mais lentamente quando comparados com outros tecidos conjuntivos (Fenwick, Hazleman, & Riley, 2002; Hayem, 2001).

O TFDS do membro anterior é muito mais propenso de ser lesionado do que qualquer outra estrutura tendinosa nos membros dos equinos, sendo que cerca de 90% das lesões ao nível dos tendões em cavalos de corrida são ao nível deste tendão (Ely et al., 2004; Ely et al., 2009), ocorrendo mais de 97% nos membros anteriores, com 8.6% lesões bilaterais (Lam et al., 2007). Outra estrutura em risco de lesão é o ligamento suspensor do boleto (LSB), o qual representa aproximadamente 7% das lesões (Ely et al., 2004; Ely et al., 2009).

2.1. Predisposição para lesões tendinosas e ligamentares

Nos equinos, as lesões dos tendões e ligamentos são causadas por uma variedade de fatores etiológicos (Smith & Goodship, 2004; Smith, 2003), sendo que estas podem ser classificadas, em intrínsecas ou extrínsecas consoante a origem do dano. As lesões extrínsecas estão frequentemente associadas a uma laceração acentuada ou um golpe traumático que danifica fisicamente a MEC e/ou as células. Já as intrínsecas estão associadas a uma condição

degenerativa dentro do próprio tendão ou ligamento, sendo que estas têm sido alvo de maior foco, e pensa-se que resultam do uso excessivo (Dahlgren, 2007).

No que diz respeito à etiologia das lesões, as influências mecânicas tem um papel central, sendo que a hipertermia dentro do núcleo do tendão, bem como um fraco fluxo de sangue à zona com consequente hipóxia e/ou produção de radicais livres de oxigênio dentro do tendão durante o exercício, também são fatores etiológicos (Smith & Goodship, 2004; Smith, 2003).

Quando os níveis de exercício excedem o limite de elasticidade dos tecidos ou quando a natureza repetitiva das cargas cria danos na MEC a uma taxa superior aquela que as células conseguem reparar, os danos acumulam-se e eventualmente tornam-se visíveis clinicamente (Smith & Goodship, 2004; Smith, 2003).

Quando se considera o efeito da idade do animal nas propriedades mecânicas do tendão, um estudo recente mostrou que, nem no tendão nem no fascículo fraco as propriedades são alteradas com o aumento da idade. Contudo tem sido demonstrado que a matriz interfascicular torna-se mais rígida no TFDS envelhecidos, mas com a idade não se altera no tendão extensor comum dos dedos (Thorpe, Udeze, Birch, Clegg, & Screen, 2013b).

A desmite proximal do LSB está associada a uma conformação vertical dos membros posteriores e/ou hiperextensão do boleto (Dyson, 2007). Os cascos devem ser também cuidadosamente avaliados, uma vez que o desequilíbrio pode ser um fator de predisposição (Dyson, 2007; Dyson & Genovese, 2011). Nos membros posteriores tem sido identificado como um problema particular, em parte devido ao aumento do apoio com o uso atlético avançado (Murray et al., 2006), mas também devido à probabilidade de reincidência com os tratamentos conservativos (Dyson & Murray, 2012). Pelo contrário nos membros anteriores pode ser transitório e é geralmente mais responsivo à terapêutica (Dyson, 2007; Dyson & Genovese, 2011).

2.2. Abordagem diagnóstica em caso de claudicação

As lesões e as doenças músculo-esqueléticas são comuns nos cavalos atletas e tem um impacto económico significativo na indústria (USDA, 2001). Nos últimos 10 anos, a consciencialização, por parte dos cavaleiros, em relação aos primeiros sinais de lesão ao nível dos tendões e ligamentos aumentou e verificou-se o acesso, por parte dos médicos veterinários, a melhores meios de diagnóstico, bem como a uma ampla gama de opções de tratamento (Dyson, 1997b; Genovese, Reef, Longo, Byrd, & Davis, 1996).

A claudicação é descrita como sendo uma claudicação de apoio ou de suspensão, tendo em conta a fase da passada que parece ser primariamente afetada (Buchner, 2013).

Na avaliação da claudicação, o trote é o andamento mais frequentemente usado pois é um andamento inerentemente simétrico com um padrão de coordenação dos membros simples e a presença de fase de suspensão que obriga o cavalo a gerir uma grande força de reação do solo (Buchner, Savelberg, Schamhardt, & Barneveld, 1996; Khumsap, Lanovaz, Rosenstein, Byron, & Clayton, 2003).

A capacidade para detetar a assimetria do movimento depende da perspicácia temporal e espacial do olho humano. No reconhecimento da assimetria o limiar é cerca de 25%, sendo a detecção da claudicação mais fácil nos membros anteriores do que nos membros posteriores (Parkes, Weller, Groth, May, & Pfau, 2009). A placa de força é considerada o *gold standard* para a detecção da claudicação. Alterações na força de um membro individualmente ou no rácio das forças entre diferentes membros são indicativos de esforço por parte do cavalo para tirar o peso do membro que claudica e redistribuição da força entre os membros (Buchner, 2013).

Mudanças cinemáticas também são visíveis na parte axial do corpo (cabeça, pescoço, tronco). O garrote (claudicação membros anteriores) ou a garupa (claudicação membros posteriores) estão mais altos aquando do contato do membro lesado do que aquando do contato do membro contralateral (Buchner et al., 1996).

Existem sistemas comerciais para detecção de claudicações bem como a sua quantificação, que foram desenvolvidos usando sistemas de sensor inerciais, os quais são baseados na combinação de acelerómetros miniaturas, giroscópios e magnetómetros. Os sensores são colocados numa localização ao longo da linha média (nuca, garrote, meio da garupa) e em um ou mais membros (casco ou tuberosidade coxal) para identificar a sequência dos movimentos dos membros. Associado a isto há um software, que mede e compara o mínimo e o máximo a nível dos marcadores posicionados na linha média e os seus movimentos na diagonal esquerda e direita. Através do padrão de assimetria, o software determina qual o membro que está mais manco ou coxo, consoante se for anterior ou posterior, e atribui a pontuação da claudicação (Keegan, 2007). Este tipo de diagnóstico de claudicações quantitativo é usado para monitorizar o progresso das claudicações ao longo do tempo e medir a resposta a anestesia ou tratamentos locais (Clayton, 2016).

Para o diagnóstico de lesões dos tecidos moles a ultrassonografia (USG) oferece a vantagem de ser em tempo real e dinâmica (Denoix, Jacot, Bousseau, & Perrot, 1996; Redding, 1994). Embora seja essencial e útil, tem sido verificado que a ultrassonografia simples sozinha só

tem diagnosticado com precisão 49%-54% dos casos identificados como lesionados através de tenoscopia (Wilderjans, Boussauw, Madder, & Simon, 2003; Smith & Wright, 2006). Este meio de diagnóstico tem sido útil em relação ao melhoramento da certeza diagnóstica, avaliação da estabilidade articular bem como ao nível da compressão nervosa através de variados movimentos de stresse e flexão (DiGiovanni, Rademacher, Riggs, Baumrueck, & Gaschen, 2016). No tendão e ligamento a área lesionada pode apresentar uma região focal hipoeecogénica ou anecogénica, que devem ser medidas, ou pode ainda apresentar um padrão hipoeecogénico difuso ao longo da secção transversal do tecido em questão. Já nas lesões crónicas, estas podem apresentar uma mistura de tecido cicatricial hipereecogénico e regiões hipoeecogénicas correspondentes a reincidências recentes. No caso de a lesão ser aguda ou subaguda pode não haver um padrão fibrilhar visível na área lesada, mas se a lesão for crónica, parcialmente curada, pode ter um padrão de fibras razoável ou uma mistura de áreas saudáveis, com um padrão linear fibrilhar paralelo, misturado com zonas de padrão fibrilhar razoável (Gillis, 2007).

Além da ultrassonografia, outros meios de diagnóstico tem sido referidos como a radiografia, para identificação de mineralização e/ou entesiopatia em doenças crónicas. Mais recentemente com a chegada da ressonância magnética (RM) (Dyson & Murray, 2007) e da Tomografia Axial Computorizada (TAC), incluindo o contraste (Puchalski, Galuppo, Hornof, & Wisner, 2007), para cavalos permitiu diagnosticar patologias onde a ultrassonografia é limitada, sendo que isto tem sido particularmente verdadeiro para a região do casco comum em lesões do tendão flexor digital profundo (TFDP) e ligamentos colaterais da articulação interfalângica distal (AID) (Smith, 2008b).

2.3. Parâmetros de avaliação ecográfica dos tendões e ligamentos da região da canela

No diagnóstico através de USG, pode ser identificado patologia no tendão e esta manifesta-se através de mudanças na CSA, na ecogenicidade, no padrão das fibras, na forma, margem e posição (Davis et al., 2006). As medidas objetivas permitem uma melhor determinação do prognóstico, bem como da avaliação da cicatrização e para o TFDS foram sugeridas as seguintes medições: CSA, havendo uma grande variação inter-individual em equinos saudáveis, variando entre 80-130 mm² nos equinos puro sangue inglês. É considerado um aumento significativo quando entre membros há uma diferença >20%, a não ser que ambos os membros estejam afetados e assim sendo isto não se aplica; a percentagem de tendão lesionado (secção transversal) no caso de lesões focais, em que é medido o CSA da lesão focal e do total do tendão em cada um dos sete níveis, sendo posteriormente somado para dar

uma aproximação do “volume” da lesão sobre o volume do tendão. Pensa-se que isto fornece avaliação ideal da severidade, correspondendo 0-15% do tendão afetado a lesões leves, 16-25% lesões moderadas e >25% lesões severas. Um método alternativo é considerar uma zona em que a lesão seja maior e quando o CSA é <10% diz respeito a uma lesão leve, 10-40% uma lesão moderada e >40% uma lesão severa, sendo que assim não é tido em conta o comprimento da lesão (Smith, 2008a).

Na ecografia no modo-B, a mais utilizada neste contexto, a ecogenicidade diz respeito ao branco ou brilho da estrutura, sendo que cada tendão e ligamento tem um padrão ecogénico característico em sítios anatómicos específicos. A ecogenicidade das lesões varia, dependendo da consistência morfológica no momento da ecografia. No sentido de melhorar a objetividade aquando da avaliação da severidade da lesão ou da resposta ao tratamento, pode ser usado um sistema de pontuação (Tabela 1). Este sistema pode melhorar a gestão dos casos assim como permite mostrar ao cliente as alterações de ecogenicidade correlacionadas com a reparação da lesão (Rantanen, Jorgensen, & Genovese, 2011).

Tabela 1- Sistema de pontuação da ecogenicidade (adaptado de Rantanen et al., 2011)

Pontuação	Descrição
0	Isoecogénica
1	Ligeiramente hipoecogénica, maioritariamente ecogénica
2	Mistura de ecogenicidades (50% ecogénica e 50% anecogénica)
3	Maioritariamente anecogénica ou anecogénica

Em relação ao padrão de alinhamento das fibras (FAS), a avaliação do alinhamento dos feixes das fibras em secção longitudinal determina a natureza do arranjo das fibras dos tendões ou ligamentos. Normalmente estas estão alinhadas de forma paralela exceto em algumas áreas como a origem do LSB nos membros posteriores, sendo que aquando ocorrência de lesão esse padrão paralelo é interrompido (Rantanen et al., 2011). Durante a cicatrização duma lesão pode ocorrer uma orientação aleatória e ligações cruzadas das novas fibras de colagénio, originando tecido cicatricial e levando a uma melhoria substancial da ecogenicidade mas a um pobre suporte para o alinhamento paralelo das fibras que é mais vantajoso fisiologicamente do que a orientação aleatória da cicatriz, uma vez que a orientação aleatória é suscetível de reincidência da lesão, especialmente durante o aumento do exercício. Numa nova lesão ou numa recidiva, as imagens longitudinais são usadas para confirmar a presença da lesão

identificada nas imagens transversais e aquando da monitorização da reparação o alinhamento das fibras deve ser avaliado (Rantanen et al., 2011). Foi mencionado um sistema de pontuação arbitrário para o alinhamento das fibras (Tabela 2) (Genovese & Rantanen, 1998; Denoix, 1996).

Tabela 2- Sistema de pontuação do alinhamento das fibras (adaptado de Rantanen et al., 2011)

Pontuação	Definição
0	$\geq 75\%$ de fibras paralelas
1	50-75% de fibras paralelas
2	25-50% de fibras paralelas
3	$\leq 25\%$ de fibras paralelas

Durante a cicatrização a pontuação da ecogenicidade normalmente melhora a uma taxa mais rápida do que a remodelação da cicatrização e do que o FAS. A diferença nessas pontuações pode ser importante para ajustar um apropriado programa de exercício controlado. Um atraso na melhoria do alinhamento das fibras sugere que a remodelação cicatricial deve continuar e propõe uma progressão conservativa na gestão do exercício (Rantanen et al., 2011). O FAS tem sido útil em determinar o prognóstico para voltar às corridas (Reef, Genovese, & Davis, 1997). Um equino com uma média de FAS menor ou igual a 0.5 4 meses depois do tratamento do TFDS tem mais probabilidades de voltar às corridas do que um equino com uma média de FAS superior a 0.5. Uma melhoria do FAS total superior a 75% está associada a uma maior probabilidade de voltar às corridas (Genovese & Jorgensen, 2002).

A medição do CSA em secção transversal, dos ligamentos ou tendões é útil especialmente na avaliação de lesões subtis ou na determinação da importância clínica da localização dum feixe de fibras focais hipoeogénicas. Um tendão ou ligamento lesionado normalmente está aumentado e embora este achado possa não ser óbvio subjetivamente, as medições do CSA confirmam o espessamento da estrutura. O CSA é um parâmetro também utilizado para avaliar a qualidade da reparação, uma vez que uma diminuição do tamanho durante a reabilitação indica que a componente inflamatória da cicatrização está resolvida, podendo indicar também uma favorável remodelação da cicatriz. Uma cicatriz orientada de forma aleatória, normalmente tem uma forma arredondada e assim ocupam mais espaço, mas como a cicatriz renova-se num alinhamento mais paralelo, menos espaço é necessário levando à redução do CSA. A sonda deve estar perpendicular à estrutura para obter um preciso CSA,

caso contrario este pode estar falsamente aumentado. A técnica mais comum é delinear a estrutura no monitor e o software do computador calcula automaticamente o tamanho, podendo esta técnica ser utilizada também para o cálculo do tamanho da lesão bem como a proporção de CSA envolvida (Rantanen et al., 2011). O CSA do membro lesionado deve ser comparado com o membro normal contralateral, no entanto isto não é possível caso a lesão seja bilateral, devendo o veterinário ter em conta a idade, tamanho e raça do equino, bem como o nível ou zona da imagem, baseada na sua experiencia pessoal e nas imagens anteriores se disponíveis (Hills, 1996).

Quantificar as imagens ecográficas através da ecogenicidade e do FAS juntamente com o CSA da lesão fornece poderosos recursos para ajudar a interpretar as lesões. Quando se avalia uma lesão de proximal para distal essas pontuações podem ser somadas para estimar o volume da lesão, podendo estes valores ser usados para, objetivamente, categorizar a lesão, bem como monitorizar a reparação (Rantanen et al., 2011).

A localização anatômica das imagens ecográficas é feita através da medição da distância ao osso acessório do carpo ou dividindo o membro em zonas. O metacarpo (Fig.2) pode ser dividido em sete ou oito zonas, caso se inclua a zona média do carpo, sendo que muitas destas zonas tem características anatômicas únicas. Nos membros posteriores (Fig.4) o ponto de referência corresponde à tuberosidade calcânea ou a articulação tarso-metatarsica, podendo a localização anatômica ser feita, como no membro anterior, medindo a distância ao ponto de referência ou dividindo o membro em zonas, no entanto os membros posteriores tem um nível adicional devido ao maior comprimento do TFDS/TFDP e do ligamento plantar. Nos membros anteriores a zona 1A vai aproximadamente dos 0.5 cm a 4 cm, distalmente à base do osso acessório do carpo, a zona 1B estende-se dos 4 aos 7 cm distais ao osso acessório do carpo, seguindo-se a zona 2A que vai dos 7 aos 10 cm, a zona 2B vai dos 10 aos 14 cm, a zona 3A prolonga-se dos 14 aos 18 cm, a zona 3B é maior do que as anteriores e prolonga-se dos 18 aos 23 cm e por ultimo a zona 3C que vai desde os 23 aos 28 cm (Rantanen et al., 2011).

Figura 2- Divisões ecográficas do carpo e metacarpo em secção transversal (adaptado de Rantanen et al., 2011)

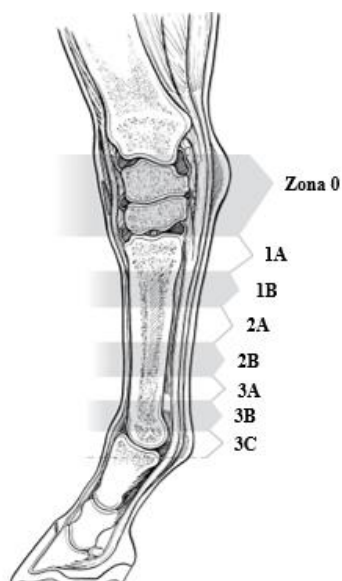
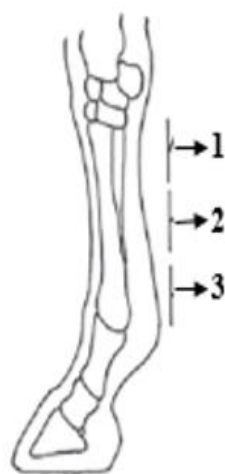
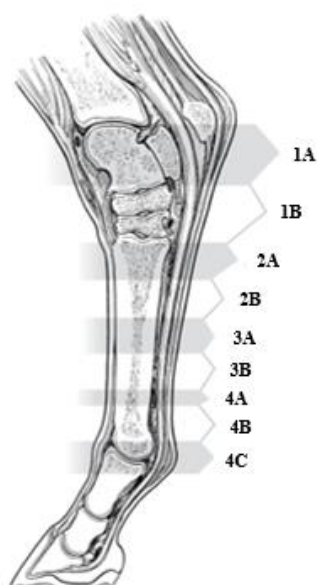


Figura 3- Divisões ecográficas do metacarpo em secção longitudinal (adaptado de Hodgson, McGowan and McKeever, 2013)



Nos membros posteriores a zona 1, que corresponde à parte plantar do tarso, é subdividida em zona A e B cada uma com 8 cm, seguindo-se a zona 2 subdividida em zona A e B que vai desde os 16 aos 21 cm e dos 21 aos 24 cm respetivamente, a zona 3 subdividida em A e B vai dos 24 aos 32 cm e dos 28 aos 32 cm respetivamente e por ultimo a zona 4 subdivide-se em A, B e C que vai dos 32 aos 36 cm, dos 36 aos 43 cm e dos 43 aos 47 cm respetivamente (Rantanen et al., 2011).

Figura 4- Divisões ecográficas do tarso e metatarso em secção transversal (adaptado de Rantanen et al., 2011)



Num estudo feito por Padaliya, Ranpariya, Kumar, Javia e Barvalia (2015), o TFDS foi a primeira estrutura a ser visualizada tanto na secção transversal como na longitudinal seguindo-se o TFDP, o ligamento acessório (LA) e por último o LSB. Este estudo comprovou que a medida da área de secção transversal é um método satisfatório para avaliar o estado dos tendões flexores e ligamentos da região metacárpica e metatársica em equinos.

Quanto ao exame ecográfico inicial, é importante que o tamanho, a ecogenicidade e o padrão das fibras seja registado tanto nas porções normais como nas alteradas (Gillis, 2007).

Nos membros anteriores de cavalos puro sangue e de “meio-sangue”, o TFDS normal tem de $CSA \leq 0.8-1.0 \text{ cm}^2$. Já em raças de ossos finos tais como os árabes a CSA é de $0.6-0.8 \text{ cm}^2$, uma vez que o CSA depende do tamanho do cavalo a avaliar e da porção do tendão a ser analisada podendo ser ligeiramente maior em raças grandes como as de sangue quente (Maoudifard, 2008 & Reef, 2006).

Em relação à medida do CSA para qualquer tendão flexor dos membros anteriores, não houve diferença estatística significativa, entre grupo dos cavalos pesado, puro sangue e pôneis como comprovou Smith, Jones e Webbon (1994). A ligeira forma de ampolheta do TFDS e do TFDP foi definida através da medição do CSA por USG com menor CSA observado a meio do metacarpo (nível 2 e 3) (Padaliya et al., 2015).

Um sinal comum de lesão aguda no TFDS é uma lesão concêntrica hipoecogénica/anecogénica visível no centro do tendão (termo usual “*core lesion*”)

normalmente centrada na região média do metacarpo. Isto é acompanhado por um aumento e um edema subcutâneo na fase aguda. As lesões podem também ter uma localização excêntrica nos bordos do tendão (medial, lateral, dorsal ou palmar). Em casos muito subtis, muitas vezes o único sinal pode ser o aumento e/ou alteração da forma do tendão, podendo ser acompanhado por um edema peritendinoso, o qual não é específico para tendinites e pode também resultar de trauma local (Smith, 2008b).

A desmite proximal do suspensor é também chamada de doença alta do suspensor ou síndrome proximal do metacarpo (Smith, 2008b). É uma lesão comum nos membros anteriores e posteriores de cavalos de competição em todas as disciplinas e pode ocorrer uni ou bilateralmente (Dyson & Genovese, 2011). O diagnóstico definitivo de desmite proximal do LSB nos membros anteriores e posteriores pode ser desafiante e requer uma abordagem lógica combinando os achados clínicos com a analgesia diagnóstica e imagens diagnósticas multimodais (Labens, Schramme, Robertson, Thrall, & Redding, 2010; Nagy & Dyson, 2012). Em relação à analgesia diagnóstica existem várias abordagens e não existe uma técnica única específica para o ligamento. Uma resposta positiva deve ser considerada para diagnóstico de dor proximal palmar/plantar do metacarpo/metatarso em vez de desmite da origem do LSB até achados anormais nas imagens suportarem o diagnóstico (Dyson, 2003). É recomendado que ambos os membros sejam avaliados, mesmo no caso de a claudicação ser unilateral para que se compare o tamanho e composição do ligamento (Werpy & Denoix, 2012). O LSB é mais largo do que o ligamento acessório do tendão flexor digital profundo (LA-TFDP), sendo impossível visualizar o lado medial e lateral do ligamento aquando da abordagem palmar do membro. Utilizando o *pad* e fazendo a abordagem medial e lateral melhora a visualização da margem medial e lateral do LSB (Denoix, Coudry, & Jacquet, 2008; Werpy & Denoix, 2012). Uma nova abordagem para visualizar a origem do LSB dos membros anteriores tem sido descrita (Coudry, Denoix, Didierlaurent, Rossignol, & Audigié, 2008; Werpy, Denoix, McIlwraith, & Frisbie, 2013), fazendo flexão do membro relaxa as estruturas palmares e permite manipular os tendões flexores, aumentando a área de contacto da sonda e, assim, permitindo observar todo o LSB (Werpy & Denoix, 2012). A aparência ultrassonográfica desta lesão tem uma sobreposição considerável com a aparência normal. As áreas hipocogénicas presentes no LSB proximal são comuns em cavalos saudáveis e, portanto, o seu significado deve ser interpretado em conjunto com os sinais clínicos (inchaço e dor à palpação), bem como analgesia local diagnóstica. Uma vez que as verdadeiras desmites do LSB variam no tempo, para confirmar é útil repetir o exame. As características ultrassonográficas são: aumento do LSB, má definição das margens (especialmente em

dorsal), simples ou múltiplas áreas hipoeecogénicas focais mal definidas, hipoeecogenicidade difusa e irregularidade da superfície palmar do metacarpo/metatarso proximal, a qual é indicativa de entesiofitos (Smith, 2008b). Meehan e Labens (2016) sentem que a literatura não apoia o uso da ecografia como totalmente conclusivo para o diagnóstico da desmite proximal do LSB, a menos que a doença seja avançada. A desmite do corpo do LSB caracteriza-se normalmente por uma hipoeecogenicidade generalizada e aumento do ligamento. Em equinos de desporto a lesão muitas vezes estende-se aos ramos do LSB. A desmite dos ramos do LSB é a lesão mais comum deste em equinos de desporto. Nos membros anteriores a desmite biaxial tem maior incidência, enquanto que nos membros posteriores a lesão mais comum do LSB é desmite do ramo lateral do LSB (Smith, 2008b).

Equinos com desmite do LA-TFDP nos membros anteriores, normalmente está associado com início de claudicação agudo e um inchaço dos tecidos moles característico na região palmar do metacarpo. A ressonância magnética tem sido recentemente sugerida como sendo superior à ultrassonografia no diagnóstico de lesões dos membros anteriores não características (Brokken et al., 2007). Lesões do LA-TFDP nos membros posteriores tem sido menos bem reconhecidas do que as lesões nos membros anteriores. As lesões podem resultar num início de claudicação agudo (Boswell & Schramme, 2000; Dyson, 2003a; Dyson, 2010; Eliashar, Dyson, Archer, Singer, & Smith, 2005; Jorgense, Diaz, & Reef, 2008; Smith & Eliashar, 2008) ou um desenvolvimento mais insidioso da claudicação e uma deformidade flexural do boleto (Reef, Sertich, & Turner, 1998; Eliashar et al., 2005).

Segundo Padaliya et al. (2015) um ligeiro aumento do tendão e ligamento, com uma diminuição difusa da ecogenicidade do tendão e ligamento e a preservação do alinhamento das fibras, é frequentemente detetado em cavalos com tendinite ou desmite recentemente diagnosticada. Esta é uma indicação precoce de tendinite, inflamação ou lesão do ligamento e frequentemente precede o desenvolvimento de arqueamento do tendão ou rotura do ligamento.

A avaliação da cicatrização de todos os tendões deve, idealmente, ser monitorizada, com recurso a ultrassonografia (Ricciardi, 2011 & Ramírez, 2006) em intervalos de 3 meses ou antes e depois da mudança do nível de exercício. Verifica-se um bom progresso quando ocorre diminuição ou manutenção do CSA e em qualquer nível um aumento de mais de 10% é aconselhável manter ou diminuir o nível de exercício; outro indicador dum progresso bom é o aumento da ecogenicidade da lesão e uma textura homogénea; uma melhoria do padrão estriado observado longitudinalmente também é indicativo de progresso positivo e por último a ausência de fibrose e adesões peritendinosas. Mais recentemente, o fluxo sanguíneo dentro

da cicatrização dos tendões flexores digitais pode ser avaliado com o membro levantado recorrendo ao Doppler (Smith, 2008a).

No primeiro exame ecográfico após o diagnóstico da lesão é considerado um bom progresso se qualquer *core lesion* está preenchida com colagénio na medida em que este é fracamente visualizável ou não visualizável. Além disso a CSA do tendão ou ligamento deve estar diminuída e o padrão das fibras melhorado um nível. Já um progresso é considerado razoável se o tamanho das lesões diminuírem moderadamente e a ecogenicidade melhorar, o CSA do tendão/ligamento seja o mesmo e o padrão fibrillar melhorado um nível (Gillis, 2007).

Para a força normal dos tecidos moles, é fundamental o alinhamento paralelo das fibras ao longo das linhas de stresse. Consequentemente, no programa de reabilitação, o padrão das fibras tornou-se cada vez mais um parâmetro importante (Gillis, 2007).

Nos exames ecográficos seguintes a evolução é considerada satisfatória se a CSA do tendão ou ligamento estiver dentro dos limites normais ou 5% dentro das estruturas normais do membro contralateral, a ecogenicidade estiver dentro dos limites normais e o padrão das fibras for saudável. Neste momento considera-se que 95% da cura foi conseguida, sendo possível visualizar alguma cicatrização ou uma hipoecogenicidade residual (Gillis, 2007).

2.4. Possíveis abordagens terapêuticas

Enquanto o risco de lesão tenha sido bem caracterizada, a eficácia de muitos tratamentos está ainda a ser estabelecida, sendo que a recorrência da lesão do tendão é comum (Dyson, 2004). Muito dos métodos atuais de tratamento de lesões de tecidos moles em atletas humanos, podem ser aplicados em lesões de tecidos moles em equinos tais como: período de repouso inicial, anti-inflamatórios não esteroides e gelo, passando de seguida a uma mobilização ativa ou passiva e um aumento do tempo de treino para fortalecer o tendão lesado e prevenir reincidências (Gillis, 2007).

Um dos tratamentos disponíveis é a matriz de bexiga urinária de suínos, que é processada mecânica e quimicamente para isolar a membrana basal e as camadas da túnica própria, os quais são ainda processados em folhas ou pó (Mitchell, 2006).

Outra abordagem possível de tratamento são os fatores de crescimento, uma vez que muitos dos tratamentos médicos para tendinites/desmites em equinos estão centrados na entrega de um único ou múltiplos fatores de crescimento no sítio da lesão. Os fatores de crescimento são moléculas de sinalização proteica que regulam o metabolismo celular. Melhoram a cicatrização do tendão e ligamento através da estimulação da proliferação celular, aumentando a síntese de matriz extracelular, e promovendo o crescimento interno vascular.

Além dos seus efeitos anabólicos, os fatores de crescimento diminuem o catabolismo das citocinas degradantes de matriz. Em relação à cicatrização dos tendões e ligamentos, os fatores de crescimento mais amplamente estudados são o fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), proteína morfogenética óssea-12 (BMP-12), fator de crescimento transformador- β (TGF- β), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator diferenciador/crescimento (GDF-5) e o fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF) (Molloy, Wang, & Murrell, 2003; Yoneno et al., 2005; Tang, Xu, Ding, & Wang, 2003; Zhang et al., 2003; Dahlgren, van der Meulen, Bertram, Starrak, & Nixon, 2002; Kang & Kang, 1999).

A terapia com células estaminais é outra alternativa para a regeneração dos tendões e ligamentos. Embora os fatores de crescimento pareçam melhorar a regeneração e reparação dos tendões e ligamentos, esforços para melhorar ainda mais a cicatrização estão atualmente centrados na disponibilidade de células estaminais no sítio da lesão. Em cavalos, o maior interesse clínico está na aplicação de células estaminais derivadas de tecido adiposo e da medula óssea para a cicatrização dos tendões, e variações de ambos os tipos de células estão sendo usadas clinicamente com sucesso (Caplan, 2005; Cohen, Leshanski, & Itskovitz-Eldor, 2006; Oreffo, Cooper, Mason, & Clements, 2005). Existem atualmente três técnicas disponíveis para o tratamento de lesões tendinosas e ligamentares com células estaminais mesenquimatosas derivadas da medula óssea: a primeira corresponde à injeção direta de uma população de células heterogêneas aspiradas da medula óssea, a segunda baseia-se na centrifugação, semelhante à usada para se obter o PRP, em que o objetivo é aumentar o número de células estaminais em cada injeção, por último a terceira técnica diz respeito à cultura da população de células derivadas da medula óssea (Fortier & Smith, 2008).

A manipulação cirúrgica como coadjuvante das terapias para regenerar os tendões e ligamentos é outra alternativa, sendo que a desmotomia do ligamento acessório do tendão flexor digital superficial (LA-TFDS) deverá ser considerada em animais com lesão do TFDS (Southwood, Stashak, Kainer, & Wrigley, 1999). A transecção do LA alonga a unidade musculotendinosa, a qual deverá contribuir para compensar a perda de elasticidade associada com a formação de cicatriz no tendão, assim diminuindo a incidência de voltar a curvar e deslocar o ponto máximo de tensão dentro do tendão (Shoemaker, Bertone, Mohammad, & Arms, 1991; Alexander, Gibson, Day, & Robertson, 2001). As técnicas cirúrgicas para libertação tenoscópica do canal cárpico (Textor, Nixon, & Fortier, 2003), transecção do ligamento anular metacarpofalangico/metatarsofalangico (Nixon, Sams, & Ducharme, 1993),

bem como a fasciotomia proximal do ligamento suspensor tem sido reportados (Hewes & White, 2006).

O ultrassom pode ser usado para estimular a cicatrização, alívio da dor, redução do edema dos tecidos e para reduzir a cicatriz fibrosa (Denoix & Pailloux, 2001; McGowan, Goff, & Stubbs, 2007). As ondas de som do ultrassom terapêutico atuam fazendo micromassagens nos tecidos e fluxo acústico dos fluidos e iões. Este efeito resulta em compressão e expansão dos tecidos e do fluido dos tecidos que podem melhorar a cicatrização dos mesmos (Hayes & Hall, 2012; Levine & Millis, 2001; Draper, Castel, & Castel, 1995; Montgomery, Elliot, & Adair, 2013).

Em relação à terapia com “ondas de choque”, este é um tratamento eficaz para tecidos moles e lesões ósseas que sejam facilmente acessíveis pela maioria dos veterinários. Está indicado para tendinites, desmites, osteoartrites e dor muscular profunda (Kaneps, 2016). O efeito biológico primário desta terapia, diz respeito à redução dos níveis dos mediadores de inflamação, aumento dos níveis das citocinas angiogénicas resultando na proliferação de vasos, aumento dos níveis de fatores de crescimento resultando na cicatrização do tecido, aumento do número de osteoblastos e recrutamento de células estaminais mesenquimatosas (Notarnicola & Moretti, 2012; Caminoto et al., 2005).

A terapia com laser a níveis baixos está indicada para tratamento de feridas, de lesões de tecidos moles, osteoartrite e alívio da dor local. Os efeitos biológicos deste tratamento passa pelos efeitos anti-inflamatórios tais como a redução dos níveis da interleucina-1 (IL-1), redução da sensação da dor através da redução da despolarização nervosa e libertação de endorfinas, bem como aumento da produção de ATP. A dose de energia necessária por tratamento depende da natureza da lesão, profundidade do tecido e do efeito desejado (Hode & Tunér, 2009). Para lesões de tecidos moles a dose de laser recomendada é de 4 a 12 J/cm² (Kaneps, 2016).

Como tratamentos possíveis para tendinites do TFDS, existe a crioterapia, pressão e suporte, sendo que o frio na fase inflamatória aguda de lesões dos tendões é um importante aspeto do tratamento uma vez que é anti-inflamatório e ao mesmo tempo analgésico devido à sua capacidade de causar vasoconstrição, diminuição da atividade enzimática, redução da formação de mediadores inflamatórios e reduz a condução nervosa (Petrov, MacDonald, Tesh, & Hoogmoed, 2003), devendo ser aplicado várias vezes por dia. Hidroterapia fria parece ser superior às embalagens de gelo devido ao aumento do tempo de contacto e evaporação (Kasashima, Eto, Kusano, & Hobo, 2001). É também menos suscetível de efeitos adversos como danos do tecido superficial, causados pela refrigeração local. A exposição prolongada a temperaturas frias pode também causar uma vasodilatação reflexa que acentuará

potencialmente o inchaço dos tecidos e edema e por isso é recomendado não aplicar frio por períodos superiores a 30 minutos (Smith, 2008b).

Nas fases agudas da inflamação dos tendões/ligamentos, pode ser considerado o uso de anti-inflamatórios corticosteroides e não esteroides sistêmicos. Normalmente, usada a fenilbutazona na dose de 2.2mg/kg a cada 12 horas, no entanto os seus efeitos clínicos parecem ser mais analgésicos do que anti-inflamatórios (May & Lees, 1997). Os esteroides sistêmicos podem ser administrados no início da fase inflamatória aguda da lesão, normalmente dentro das 24-48 horas após lesão, e são muito eficazes. No entanto devem ser evitados na fase de cicatrização, uma vez que inibem a fibroplasia e portanto a reparação do tendão (Scutt, Rolf, & Scutt, 2006; Shrier, Matheson, & Kohl III, 1996). Dimetilsulfóxido (DMSO) tópico ou endovenoso pode reduzir a inflamação, mas um estudo tem demonstrado que 40-90% da aplicação tópica pode enfraquecer o tecido do tendão normal (Albrechtsen & Harvey, 1982). No caso do tratamento de tendinopatias e desmopatias, os glicosaminoglicanos polissulfatados (GAGPSs) tem sido amplamente usados. São normalmente administrados sistemicamente por injeção intramuscular, embora possam também ser administrados por injeção intralesional (Smith, 1992). Evidências sobre a sua eficácia são limitadas, contudo foi demonstrado que melhoraram a ecogenicidade de tendinites do TFDS induzidas pela collagenase, bem como aumentam a rapidez de resolução das core lesions tratadas com GAGPSs intralesional (Redding, Booth, & Pool, 1992).

O tratamento intralesional não deve ser feito até três dias após a lesão, uma vez que há potencial para aumentar a hemorragia, sendo que o volume administrado dentro do tendão ou ligamento vai depender da extensão da lesão e grandes volumes podem ser potenciais para danificar a cicatrização do tendão (Van den Belt, Keg, & Dik, 1992). Além dos GAGPSs, outros agentes mais frequentemente utilizados para tratamento intralesional são o ácido hialurônico (AH), corticosteroides e o beta-aminopropionitrile (BAPN) (Smith, 2008). O AH foi descoberto para minimizar o aumento do tendão comparado com o controlo e pode ser administrado peritendinoso, intralesional e sistemicamente para tratar tendinites (Gift, Gaughan, & DeBowes, 1992). Os corticosteroides, pelo menos os preparados de ação prolongada como a metilprednisolona, não devem ser injetados diretamente nos tendões ou ligamentos uma vez que tem sido demonstrado que causam calcificação distrófica e necrose dos tecidos, provavelmente uma consequência do veículo (Pool, Wheat, & Ferraro, 1980). O uso peritendinoso e sistêmico nas fases iniciais é apropriado e pode ser usado criteriosamente (Smith, 2008).

O *splitting* do tendão é agora pensado como sendo mais relevante na gestão de casos agudos onde existe uma *core lesion* anecogénica evidente ao exame ultrassonográfico a qual indica a presença dum seroma ou hematoma e que leva ao síndrome de compartimentalização com consequente diminuição da perfusão e isquémia da região. Assim, o objetivo é descomprimir a *core lesion* através da eliminação do soro/hemorragia e facilitar o crescimento vascular (Smith, 2008b).

2.5. Mecanismo de reparação das lesões

A capacidade de cicatrização intrínseca do tendão é baixa e poucos cavalos voltam ao nível de atividade anterior à lesão (O'Meara, Bladon, Parkin, Fraser, & Lischer, 2010; Marr, Love, Boyd, & McKellar, 1993).

A cicatrização das feridas é um processo biológico complexo, que começa sempre que a integridade dos tecidos é quebrada (Bennet & Schultz, 1993a; Bennet & Schultz, 1993b), sendo que este processo envolve interações celulares que promovem a fagocitose, a quimiotaxia, a mitose, a angiogénese, a apoptose e a síntese de variados factores como o colagénio e componentes da matriz extracelular (Bennet & Schultz, 1993a; Schaffer & Nannay, 1996). Este processo de reparação das lesões ocorre de forma mais lenta nos tendões e ligamentos do que na pele, tornando-se crítico que o processo de reabilitação seja adaptado para acomodar o atraso do aumento das propriedades mecânicas (Dahlgren, 2007).

Ao longo das fases de cicatrização dos tendões e ligamentos, uma série de alterações ocorrem na expressão génica, no entanto, nos equinos a informação específica relativamente a estas alterações é limitada (Dahlgren, Mohammed, & Nixon, 2005b; Dahlgren, van der Meulen, Bertram, Starrak, & Nixon, 2002; Dahlgren, Brower-Toland, & Nixon, 2005a; Donnelly, Nixon, Haupt, & Dahlgren, 2006).

3. PRP- Plasma Rico em Plaquetas

O PRP é um dos produtos derivados das plaquetas, que começou a ser usado em 1970 e atingindo uma maior utilização em 1990 (Amable et al., 2013), tendo sido usado a primeira vez em cirurgia oral e maxilofacial (Anitua, 1999; Marx et al., 1998) e tem também sido amplamente usado noutros campos (Everts et al., 2007; Everts et al., 2008; Radice et al., 2010; Sampson, Gerhardt, & Mandelbaum, 2008).

O tratamento à base de plasma rico em plaquetas baseia-se no fornecimento de fatores de crescimento, quimiotaxia e suporte aos tecidos. Este produto resulta de uma amostra de

sangue total e é definida como uma porção do plasma do sangue total que contem pelo menos duas vezes as plaquetas presentes no sangue total. A concentração de plaquetas obtida é então colocada no local da lesão como terapia (Cook, 2013).

Segundo Foster, Puskas, Mandelbaum, Gerhardt e Rodeo (2009) o plasma rico em plaquetas contem 3 a 5 vezes o valor normal em fatores de crescimento.

O PRP ou fibrina rica em plaquetas aparece muitas vezes associada a fatores de crescimento, medicina regenerativa e células estaminais (Tatullo et al., 2016; Marrelli et al., 2015).

3.1. Mecanismo de ação do PRP

O plasma rico em plaquetas através da libertação de fatores de crescimento e citocinas, a partir dos grânulos α presentes nas plaquetas, pode estimular a cicatrização (Foster et al., 2009), uma vez que os fatores de crescimento, aquando da reparação tecidular, ligam-se aos receptores celulares ativando assim a sinalização intracelular e consequentemente facilitam a cicatrização, sendo que também desempenham um papel importante na revascularização (Tabata, 2004).

Os fatores bioativos, presentes nos grânulos densos das plaquetas, como a serotonina, a histamina, a dopamina, o cálcio e a adenosina, têm um efeito essencial no que diz respeito aos aspectos biológicos da cicatrização de feridas. A fase de inflamação tem início aquando da lesão dos tecidos e nesta fase as plaquetas agregam-se e libertam fatores de crescimento, citocinas e fatores hemostáticos essenciais nas fases iniciais da via intrínseca e extrínseca da cascata de coagulação (Bennett & Schultz, 1993a; Los, De Weger, Van den Berg, Sakkers, & Den Otter, 1988), no entanto a capacidade da serotonina, uma monoamina neurotransmissora (Mishra, Woodall, & Vieira, 2009), em aumentar a permeabilidade capilar é superior à da histamina (Parratt & West, 1957).

A colocação, no momento da lesão, é suficiente para as plaquetas chegarem através dos capilares e serem ativadas, libertando o conteúdo dos grânulos dentro do sítio da ferida. Este influxo de fatores de crescimento e proteínas tem um papel ativo na síntese dos componentes necessários para a regeneração, assim como tem uma ação paracrina, através do recrutamento de outras células para o sítio da lesão (Wroblewski, Mejia, & Wright, 2010).

3.1.1. Importância das plaquetas

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos dos megacariócitos e desempenham um papel central no complexo processo da hemóstase, sendo que a formação do coágulo e a ativação

das plaquetas são considerados os primeiros passos do processo de cicatrização (Anitua, Andia, Ardanza, Nurden, & Nurden, 2004).

As plaquetas estão presentes no sangue periférico, variando entre 150 000/ μ L a 350 000/ μ L, são pequenas, sem núcleo, sendo conhecidas primordialmente pela função de hemóstase. Contém citocinas, proteínas e outros factores que iniciam e regulam aspectos primários da cicatrização de feridas. Um PRP com uma concentração de plaquetas de 1 000 000/ μ L em 5 mL de plasma está associado a uma melhoria da cura (Marx, 2001).

As plaquetas contem numerosos fatores de crescimento (Sharif & Abdollahi, 2010), envolvidos na formação de coágulos e cicatrização de feridas (Martineau, Lacoste, & Gagnon, 2004; Kark, Karp, & Davies, 2006), como o PDGF, VEGF, IGF-1, IGF-2, fator de crescimento epidérmico (EGF), TGF- β e TGF- β 2 (Sharif & Abdollahi, 2010), fator de crescimento das células epiteliais (ECGF) e o fator de crescimento dos hepatócitos (HGF) (Kiuru, Viinikka, Myllylä, Pesonen, & Perheentupa, 1991). O tromboxano A2 (TXA2) e as prostaglandinas (PGs) são outros mediadores presentes nas plaquetas, os quais podem estar envolvidos na remodelação do osso (Martineau et al., 2004; Kark et al., 2006).

3.1.2. Fatores de Crescimento

Os fatores de crescimento são péptidos sinalizadores de moléculas, que influenciam um diverso leque de funções biológicas incluindo o metabolismo celular, proliferação celular e diferenciação, bem como a produção de moléculas da MEC (Bradshaw & Cavanaugh, 1990; Rechler & Nissley, 1990; Zapf, Schmid, & Froesch, 1984)

Como já foi referido, as citocinas presentes nas plaquetas incluem o TGF- β , o PDGF, o IGF-I, IGF-II, fator de crescimento fibroblástico (FGF), o EGF, o VEGF, o fator de crescimento das células endoteliais (Foster et al., 2009) e fator plaquetario 4, sendo que a concentração destes fatores de crescimento aumentam de forma linear com o aumento da concentração de plaquetas (Marx, 2001; Eppley, Woodell, & Higgins, 2004) e têm um papel essencial na proliferação celular, quimiotaxia, diferenciação celular e angiogénese (Foster et al., 2009).

O fator de crescimento fibroblástico (FGF) compreende vários polipeptídeos como o FGF ácido (aFGF ou FGF-1), FGF básico (bFGF ou FGF-2), vários oncogenes (int-2, hst/K-FGF, FGF-5) e o fator de crescimento dos queratinócitos (KGF) (Reynolds, Killilea, & Redmer, 1992; Redmer & Reynolds, 1996; Gerwins, Skoldenberg, & Claesson-Welsh, 2000; Robinson, 1994; Baird & Klagsbrun, 1991; Reynolds & Redmer, 1998; Zimmerman, Selzman, & Harken, 1999). Pensa-se que três proteínas da família do FGF são importantes como

reguladoras do processo de cicatrização de feridas: FGF-1, FGF-2 e KGF (Bennet & Schultz, 1993a).

O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), anteriormente conhecido por somatomedinas, é produzido maioritariamente no fígado podendo ser produzido através de mecanismos autocrinos em qualquer outro tecido (Herndon, Hayward, Rutan, & Barrow., 1992). O IGF-1 e IGF-2, compostos por 67 e 70 aminoácidos respetivamente, estão envolvidos na regulação do crescimento dos tecidos, desenvolvimento e regeneração (Bennett & Schultz, 1993a; Steenfos, 1994; MacGregor & Parkhouse, 1996). Os IGFs e as suas proteínas de ligação estão envolvidos na reparação do tecido muscular e na re-enervação do músculo após lesão (Bennet & Schultz, 1993a; Bennet & Schultz, 1993b; MacGregor & Parkhouse, 1996; Menetrey, et al., 2000).

O fator de crescimento transformador beta (TGF- β) tem um peso molecular 25 quilodaltons (kDa) e é estável na presença de ácidos e calor (Servold, 1991). Três isoformas estão identificadas, sendo elas: β 1, β 2 e β 3 (Ten Dijke, Hansen, Iwata, Pieler, & Foulkes, 1988).

À semelhança do PDGF, o TGF- β é encontrado em altas concentrações nos grânulos das plaquetas e são libertados durante a desgranulação no local da lesão (Lawrence & Diegelman, 1994). O TGF- β regula a sua própria produção pelos macrófagos de maneira autócrina e estimula os monócitos a libertar outros fatores de crescimento como o FGF, PDGF e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (Lawrence & Diegelman, 1994).

O fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) tem um peso molecular de 30-32 kDa, é uma proteína catiónica, estável ao calor, sendo composto por duas cadeias peptídeas ligadas por pontes de dissulfeto, identificadas como cadeias A e B, combinadas de três formas (AA, AB, BB). Este fator de crescimento atua nas células através de ligações a um ou dois receptores de membrana, receptor- α e receptor- β (Bennet & Schultz, 1993b; Servold, 1991; Davidson & Benn, 1996; Breitbart, Grande, & Laser, 2001; Herndon, Nguyen, & Gilpin, 1993).

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) foi inicialmente descoberto como uma proteína libertada pelas células tumorais com o intuito de aumentar a permeabilidade dos vasos sanguíneos locais para as macromoléculas circularem (Ferrara, 1999; Taub, Silver, & Weinberg, 2000). É originalmente conhecido como um fator de permeabilidade vascular e é

um indutor específico da mitose das células endoteliais, bem como quimiotático da atividade angiogénicas in vivo (Ferrara, 1999; Nissen & DiPietro, 2000).

Este fator de crescimento é produzido pelas células endoteliais, macrófagos, células tumorais, pericitos, linfócitos, células musculares lisas, granulócitos, megacariócitos e monócitos (Svendsen, Werther, Nielsen, & Kristjansen, 2002; Redmer et al., 2001).

O fator de crescimento epidérmico é uma molécula com 6 kDa de peso molecular, principalmente produzido pelas plaquetas e está presente em elevadas concentrações nas primeiras fases da cicatrização de feridas (Steed, 1998).

O receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) pode ser ativado por outros componentes como o TGF- α , assim como pela heparina ligada ao EGF (Wells, 1999; Danielson & Maihle, 2002), sendo que a heparina ligada ao EGF para além de ser um potente indutor da mitose das células epiteliais, também atua nas células musculares lisas vasculares através dos seus efeitos mitóticos a este nível, desempenhando assim o papel de cicatrização das feridas através da estimulação da angiogénese (Abramovitch et al., 1998).

Este fator aumenta a taxa de epiteliação das feridas e reduz as cicatrizes, prevenindo assim a contração excessiva das feridas (Inoue, Ono, Tateshita, Kuroyanagi, & Shioya, 1998; Svensjo, Yao, Pomahac, Winkler, & Eriksson, 2002), promovendo também a migração dos queratinócitos para o local da lesão (Pienimäki et al., 2001; Burling et al., 2000).

O fator plaquetário 4 é libertado pelos grânulos α das plaquetas e tem o papel de levar ao influxo de neutrófilos para o sítio da lesão, assim como tem propriedades quimiotáticas para os fibroblastos. Funciona como mediador do efeito das moléculas de heparina para aumentar o coágulo sanguíneo (Alsousou, Thompson, Hulley, Noble, & Willett, 2009; Maurer, Zhou, & Han, 2006).

3.2. Tratamento à base de PRP em diferentes tipos de tecidos

Como fonte concentrada de plaquetas autólogas, o PRP contém diferentes fatores de crescimento derivado das plaquetas e outras citoquinas que promovem a cicatrização dos tecidos moles e osso (Anitua, 1999; Marx et al., 1998).

São diversos os estudos presentes na literatura, que documentam a segurança e eficácia do uso dos PRP em diversas áreas (Foster et al., 2009), sendo que atualmente a maioria das aplicações ortopédicas deste podem ser agrupadas em uma das quatro categorias seguintes:

tendinites crônicas, lesões agudas dos ligamentos, lesões musculares e reforço intraoperatório (Berghoff, Pietrzak, & Rhodes, 2006; Gardner, Demetrakopoulos, Klepchick, & Mooar, 2007).

A cicatrização de tecidos como os músculos, tendões e ligamentos ocorre em três fases: inflamação, proliferação e remodelação. Nestas três fases as citocinas tem um papel fundamental, estando ativas em cada uma destas fases, fixando-se aos receptores transmembranares das células locais e de circulação iniciando sinalização intracelular que em último caso afeta a expressão genética no núcleo (Foster et al., 2009).

No tratamento de tecidos moles (tendão, ligamento ou músculo) com uma lesão aguda deve ser determinado a melhor altura para administrar o PRP, e portanto o efeito de injeções em série deve ser observado. Com o progresso de cicatrização o ambiente biológico muda e portanto o efeito das citocinas pode ser muito diferente em diferentes alturas após a lesão. Pode até haver potencial para exacerbar a inflamação, e portanto a dor, em caso de lesão aguda (Liu, Kalén, Risto, & Wahlström, 2002).

3.2.1. Utilização em lesões tendinosas e ligamentosas

Biologicamente a cicatrização e remodelação dos tendões pode ser muito diferente entre uma tendinopatia aguda e crônica, e é importante fazer distinção entre estas duas situações clínicas quando se pensa no papel do PRP na cicatrização dos tendões. Diversos estudos tem demonstrado que o PRP afeta positivamente a expressão genética e a síntese de matriz nos tendões e células do tendão. Numa cultura de tenócitos humanos com PRP, a proliferação das células e a produção de colagénio total aumentou, com aumento ligeiro da expressão da enzima degradante de matriz da MMP-1 e MMP-3 (de Mos et al., 2008).

3.2.2. Utilização em lesões musculares, lesões articulares, lesões ósseas e lesões cutâneas

O PRP tem sido proposto como uma interferência potencial para atletas com lesão muscular aguda. Um estudo in vitro, estudou o facto dos fatores de crescimento poderem influenciar a regeneração do músculo após lesão (Kasemkihwattana et al., 2000), sendo que o tratamento com PRP após uma lesão muscular aguda pode ajudar o atleta diminuindo o tempo de recuperação, contudo não há estudos randomizados controlados em humanos em relação ao uso do PRP para lesões musculares (Foster et al., 2009).

Em relação à aplicação do PRP na cartilagem, Bennet e Schultz (1993a) demonstraram bons resultados utilizando PRP no tratamento de lesões da cartilagem articular. O uso do PRP

aumenta os glicosaminoglicanos e a síntese de colagénio tipo II, ao mesmo tempo que diminui a degradação da cartilagem. Através da utilização do PRP é estimulada a condrogénese das células estaminais mesenquimatosas e promovida a proliferação dos condrócitos, diferenciação e adesão.

No osso, as plaquetas atuam tanto na formação como na reabsorção do mesmo (Fioravanti et al., 2015) e tanto em situações agudas como crónicas (Martineau et al., 2004). Promovem a migração e proliferação das células osteogénicas (Klinger & Jelkmann, 2004), aumentam a formação de vasos sanguíneos e desencadeiam uma reação inflamatória melhorando assim a regeneração do osso (Rhee et al., 2004).

Nos equinos a cicatrização de feridas abaixo do curvilhão ou joelho é um problema mesmo nos animais mais saudáveis (Bertone, 1989), pois são resistentes à cicatrização, podendo isto dever-se ao fato da distância entre o tronco e os membros inferiores do equino ser grande, levando assim a uma irrigação sanguínea fraca e consequentemente baixa oxigenação, baixa temperatura e um desequilíbrio dos fatores de crescimento (Dyson, 1997a; Theoret, Barber, Moyana, & Gordon, 2001), ao contrário de feridas profundas e extensas na parte superior do corpo que cicatrizam muito bem e com poucas complicações (Knottenbelt, 1997).

3.3. Vantagens e desvantagens do PRP

As vantagens do PRP incluem o facto de ter origem no próprio indivíduo, elevada concentração de fatores de crescimento, baixo custo (relativamente às células estaminais), formação de um suporte após administração e fácil preparação/administração (Fortier, 2009). Uma vez que tem origem no próprio indivíduo a hipótese de haver rejeição é baixa, podendo ser preparado no momento do tratamento de forma simples e relativamente barata. (Foster et al., 2009). Comparando a vantagem terapêutica do PRP em relação aos fatores de crescimentos isolados, o PRP corresponde a uma mistura natural fisiológica de mediadores estimuladores e inibidores nomeados para terem efeito biológico sinérgico em ambiente de cicatrização de feridas (Steel, Robertson, Thomas, & Yovich, 1999).

Em relação às desvantagens, a falta de células estaminais na preparação obtida e a variabilidade entre produtos no que diz respeito à concentração de plaquetas e à presença residual de leucócitos são exemplo disso (Fortier, 2009). Uma complicação rara mas possível de ocorrer, é a formação de anticorpos contra a trombina nos casos em que esta é utilizada para induzir a coagulação e posterior ativação plaquetária, ocorrendo assim uma coagulopatia imunomediada (Foster et al., 2009). A quantidade ótima do PRP, é uma das limitações associadas ao seu uso uma vez que não está ainda definida. Embora a aplicação do PRP possa

aumentar a migração e proliferação das células estaminais mesenquimatosas, a excessiva exposição das células ao PRP pode também limitar a diferenciação dessas células na linha celular apropriada (Marx, 2004), havendo teoricamente preocupação acerca da possibilidade de efeito cancerígeno após administração de PRP devido a um aumento sistêmico de fatores de crescimento, no entanto não há dados que suportem esta teoria (Foster et al., 2009). Cada uma das diferentes zonas que compõe o tendão, junção musculotendinosa, zona tênsil do tendão, bem como a junção osteotendinosa (Mishra et al., 2009), podem ter diferentes respostas aquando expostas ao PRP (Wroblewski et al., 2010), necessitando assim de serem estudados os efeitos do PRP em diferentes locais dentro do tecido (Mishra et al., 2009). Uma vez que não há uma preparação standard para a preparação de PRP, torna-se problemático extrapolar dados dum estudo para outro, explicando assim os resultados inconsistentes tanto a nível clínico como experimental. (Foster et al., 2009)

3.4. Obtenção de PRP

O PRP é obtido através do sequestro e concentração de plaquetas usando-se um gradiente de densidade de centrifugação (Marx et al., 1998).

As tecnologias que permitem obter o PRP estão atualmente a ser usadas numa ampla variedade de aplicações clínicas em medicina humana. O concentrado de plaquetas pode ser obtido através dos seguintes métodos: método dos tubos (manual), método buffy coat (semiautomático) e método aférese (automático). Em relação ao método dos tubos, este tem a vantagem de ser barato e requer mínima técnica. O método da centrifugação simples e dupla demonstrou recentemente ser fiável para concentrar plaquetas equinas e para obter níveis de TGF- β 1 potencialmente terapêuticos (Argüelles et al., 2006). Além dos métodos anteriormente referidos existe no mercado europeu outro método disponível, o Equine Platelet Enhancement Therapy (E-PET) (Conceição et al., 2017).

Existem vários equipamentos para separar o plasma e cada um tem ligeiras diferenças no que diz respeito aos passos de preparação. No entanto o processo no geral é muito simples independentemente do dispositivo em causa. A concentração de plaquetas ideal não é conhecida e por isso não parece haver vantagem de um sistema sobre qualquer outro (Foster et al., 2009).

Para colheita do sangue é aconselhada que seja usada uma agulha de 18-gauge para diminuir a irritação e o trauma nas plaquetas, passando depois à centrifugação do sangue em questão. Dependendo do sistema utilizado, obter-se-á entre 3 a 6 mL de PRP e respetivamente 30 a 60 mL de sangue podem ter de ser colhidos (Foster et al., 2009).

Só é possível obter este plasma rico em plaquetas a partir de sangue não coagulado, pois as plaquetas, caso o sangue esteja coagulado, fazem parte desse coágulo. A partir do soro também não é possível obter este produto, uma vez que corresponde ao que se obtém após separação das células sanguíneas e proteínas envolvidas na coagulação, sendo por isso pobre em plaquetas. O primeiro passo para se obter o PRP, é adicionar ao sangue colhido citrato, para que o cálcio ionizado seja aprisionado e a cascata de coagulação inibida. De seguida, ocorre uma ou duas centrifugações, sendo a primeira necessária para que haja separação das hemácias (7 μ de diâmetro) e glóbulos brancos (7-15 μ de diâmetro) do plasma e das plaquetas (2 μ de diâmetro). A segunda centrifugação concentra mais as plaquetas permitindo separar o PRP do plasma pobre em plaquetas (PPP) (Foster et al., 2009).

3.4.1. Características dos métodos de obtenção

A sequestração gravitacional de plaquetas é a técnica mais comum e eficaz usada na preparação do PRP e permite obter aproximadamente 10% do volume total do sangue colhido. Através dum sistema de centrifugação é possível separar o sangue anticoagulado em diferentes camadas: plasma, buffy coat e glóbulos vermelhos (Alsousou et al., 2009).

No sistema específico equino, baseado na filtração celular gravitacional (Castelijns et al., 2011; Textor, 2011), e não padronizado, é frequentemente utilizada a técnica “manual” dos tubos com dupla centrifugação (Maia et al., 2009; Textor, 2011; Torricelli et al., 2011; Argüelles et al., 2006). Outros sistemas comerciais fáceis de usar, baseados na preparação por centrifugação e originalmente desenvolvidos para pacientes humanos são também usados em casos de equinos. O sangue dos equinos e dos humanos tem diferentes características, as quais afetam a sedimentação celular (Amin & Sirs, 1985; Welsh, 2000; Brockus & Andreasen, 2003; Grondin & Dewitt, 2010) e portanto, métodos de centrifugação ótima para estas espécies varia (Kissich et al., 2012). Consequentemente, a concentração de plaquetas e de fatores de crescimento, bem como a bioatividade destes produtos pode não atender às expectativas em equinos se os protocolos usados forem humanos (Hessel, Bosch, van Weeren, & Ionita, 2015).

A concentração autóloga de plaquetas nos equinos geralmente tem uma contagem de plaquetas e uma concentração de fatores de crescimento menor do que os mesmos sistemas humanos (Bosch et al., 2010; Schnabel et al., 2007; Wasterlain, Braun, & Dragoo, 2012). As células sanguíneas dos equinos necessitam duma centrifugação a uma força centrífuga

relativamente mais baixa do que as células dos humanos para haver separação em gradiente (Kissich et al., 2012).

A plaquetaferese utiliza um separador de células sanguíneas com um sistema de dupla agulha redutor das células sanguíneas brancas (wbc), com uma solução salina isotônica e citrato como anticoagulante. A suspensão de plaquetas obtidas por aferese é centrifugada a 3000 g durante 15 minutos, sendo o sobrenadante descartado e as plaquetas sedimentadas ressuspensas em 1 mL de plasma (Fioravanti et al., 2015).

O método do buffy coat é realizado através do método top-and-bottom após a centrifugação do sangue total (450mL) a 3000 g durante 13 minutos, o PRP está pronto após a centrifugação da ressuspensão do buffy coat durante 5 minutos a 400 x g (Fioravanti et al., 2015).

O método dos tubos é feito a partir de sangue total (50 mL) posteriormente centrifugado a 1650 x g durante 10 minutos, de seguida o sobrenadante é colhido e centrifugado a 730 g durante 15 min, sendo a sedimentação de plaquetas ressuspensa em 1.5 mL de plasma (Fioravanti et al., 2015).

Por último o método E-PET baseia-se na filtração do sangue, recorrendo para isso a um filtro seletivo, no qual há uma interação por tamanho e adsorção, permitindo a passagem dos eritrócitos, ficando as plaquetas retidas nesse filtro. De seguida e recorrendo a uma solução hipersaturada e a um processo de retrolavagem o concentrado de plaquetas é recuperado, conduzindo as plaquetas no sentido do local de recolha. Este método, não necessita de um laboratório e por isso pode ser efetuado ao lado do animal (Conceição et al., 2017).

A produção de PRP tem sido desenvolvida de acordo com vários protocolos de muitas empresas, diversificando especialmente o método das fases de separação da amostra, sendo que isso deve ser salientado (Fioravanti et al., 2015). O tempo de preparação do concentrado de plaquetas é cerca de 1 hora. A primeira centrifugação tem como função separar as três camadas: eritrócitos, localizadas na parte inferior do tubo e correspondente a 55% do volume total, a camada de plasma acelular ou PPP presente na parte superior do tubo e por ultimo a camada flogística correspondente à fração entre as duas camadas anteriormente mencionadas, no qual se encontra concentradas as plaquetas. Os passos seguintes tem como objetivo descartar a camada eritrocitária e o PPP e colher somente a camada flogística (Ehrenfest, Rasmusson, & Albrektsson, 2009). Recorrendo a uma seringa esterilizada aspira-se o PPP, o PRP e alguns corpúsculos vermelhos transferindo-se posteriormente para outro tubo. A segunda centrifugação separa as plaquetas e as wbc juntamente com alguns eritrócitos do plasma e produz-se assim o PRP separado do PPP (Fioravanti et al., 2015).

A técnica de spinning é importante, uma vez que um estudo demonstrou que a composição celular da concentração autóloga de plaquetas resultante dum spin único tinha um maior efeito positivo no metabolismo dos condrócitos do que as preparações resultantes dum spin duplo (Kisiday, McIlwraith, Rodkey, Frisbie, & Steadman, 2012). Embora uma dupla centrifugação permita obter uma concentração maior de plaquetas, o intervalo de valores obtidos é muito maior (Tamimi, Montalvo, Tresguerres, & Jerez, 2007).

A concentração de plaquetas ótima em equinos para uso clínico ainda não foi definida (Rindermann, Cislakova, Arndt, & Carstanjen, 2010), sendo que os efeitos in vitro tem sido reportados com uma menor concentração de plaquetas (Boswell et al., 2014). A composição celular ideal do concentrado autólogo de plaquetas pode diferir dependendo da indicação (Argüelles et al., 2006; Textor & Tablin, 2013).

3.5. Procedimento de administração de PRP

O método de eleição para administrar o PRP dentro da lesão do tendão é a injeção, sendo que várias preparações de PRP injetáveis estão disponíveis para a gestão de várias tendinites. A injeção do PRP está sendo cada vez mais usada como terapia regenerativa no tratamento de tendinites (Gosens, Peerbooms, van Laar, & den Oudsten, 2011; Mishra & Pavelko, 2006; Nguyen, Borg-Stein, & McInnis, 2011; Peerbooms, Sluimer, Bruijn, & Gosens, 2010).

Num estudo feito em humanos por Park, Knon, Cho, Park e Park (2017), as descobertas feitas sugerem que o PRP administrado, tende a não ficar no sítio onde foi injetado e difunde-se, independentemente das condições como o tipo de tendão, severidade da patologia presente no mesmo e presença de inflamação.

Loftus, Endo e Adler (2012), no seu estudo demonstraram que a injeção do PRP estendeu-se além do sítio onde foi administrado e frequentemente difundiu-se ao longo do tendão ou tecido mole peritendinoso. Os autores indicaram que uma única punção pode ser adequada, considerando que salpicando de forma cega não foi necessário para uma distribuição extensa.

O uso de anestésico local antes ou durante a administração pode ser controverso, pois o anestésico pode alterar o pH dos tecidos e diminuir a eficácia da injeção. No entanto isto não está documentado clinicamente, mas o PRP é sensível às mudanças de pH e os anestésicos locais podem provocar isso (Shen et al., 2005).

A administração é feita por injeção com uma agulha de 18-gauge, mas é recomendado a técnica de injeção multiplanar para reforçar a distribuição das plaquetas por uma maior área e assim potenciar o processo de cicatrização (Shen et al., 2005).

É importante não administrar AINES nas primeiras 2 semanas após administrar o PRP, pois podem inibir a cascata inflamatória e o efeito benéfico da administração do PRP (Shen et al., 2005).

4. Imagiologia como auxiliar no tratamento à base de PRP

No que diz respeito à ecogenicidade do tendão, esta é baseada na densidade e no arranjo altamente estruturado da matriz colagénica. Tendões sem lesão tem um padrão ecogénico regular entre os feixes do tendão e do endotendão (Martinoli, Derchi, Pastorino, Bertolotto, & Silvestri, 1993; van Schie & Bakker, 2000). No tendão lesionado, este apresenta uma desintegração dos feixes do mesmo, consequentemente uma ecografia menos intensa e mais irregular, visualizáveis como áreas hipoecogénicas (Marr, McMillan, Boyd, Wright, & Murray, 1993). Em relação à quantificação dos níveis de cinzentos, tem sido demonstrado que são insuficientes para avaliar com precisão a reparação das lesões presentes nos tendões (van Schie, Bakker, & van Weeren, 1999), bem como inadequados para discriminar a fase de cicatrização da lesão, uma vez que a desintegração dos feixes tendinosos é um fenómeno em três dimensões (van Schie, Bakker, Jonker, & van Weeren, 2000). Para ultrapassar este problema foi desenvolvida uma técnica para caracterização ultrassonográfica dos tecidos (UTC- ultrasonographic tissue characterisation), que consiste em armazenar imagens ecográficas em secção transversal, distanciadas de forma regular ao longo do eixo axial do tendão e posteriormente combinadas para criar a imagem em 3D (Harris, Follet, Halliwell, & Wells, 1991; van Schie & Bakker, 2000). Assim o UTC permite obter informações precisas sobre a organização tridimensional da matriz colagénica e sobre a integridade do tecido do tendão (van Schie et al., 2009). O UTC é uma ferramenta excelente para avaliar objetivamente a eficácia do tratamento em lesões do TFDS em equinos (Bosch et al., 2011).

A administração ecoguiada torna mais sofisticada a entrega através da possibilidade de visualização dos produtos injetados na região de lesão do tendão (Loftus et al., 2012), no entanto não existem dados que suportem o uso de ultrassom, apesar deste permitir ao clínico administrar o PRP dentro do tendão e ter um controlo da profundidade da agulha (Shen et al., 2005).

Figura 5- Administração ecoguiada do PRP



III. APRESENTAÇÃO DOS CASOS CLÍNICOS

Objetivos

Acompanhar a evolução ao longo do tempo, do tratamento à base de Plasma Rico em Plaquetas, em lesões ligamentares e tendinosas da região da canela em equinos; Para isso, investigou-se a variação, assim como a sua repetibilidade, de parâmetros identificados no exame ultrassonográfico para cada uma das lesões diagnosticadas. Assim, fazem parte dos objetivos específicos investigar:

1. A variabilidade longitudinal das diferentes medidas para cada tipo de lesão;
2. A repetibilidade das medidas selecionadas consoante as regiões anatómicas e secções ao exame ecográfico;

1. Materiais e Métodos

1.1. Critérios de inclusão da amostragem

Foram incluídos neste estudo os cavalos acompanhados e apresentados por claudicação devido a desmopatias ou tendinopatias e com tratamento à base de PRP. Estes casos clínicos foram assistidos durante o estágio curricular na Clínica Veterinária Militar de Equinos na Escola das Armas em Mafra, entre os dias 3 de Outubro de 2016 a 31 de Março de 2017. A avaliação e acompanhamento destas lesões foi feita essencialmente por ultrassonografia.

A amostra foi caracterizada pela: raça, idade, sexo, disciplina praticada, tempo de ferração (até ao dia da consulta) e tipo de ferração.

1.2. Métodos e parâmetros da avaliação ultrassonográfica

Consoante a região, onde se encontra a lesão, e o posicionamento da sonda durante o exame de ultrassonografia, a lesão diagnosticada foi identificada com (Fig. 6 e 7):

- ✓ A “Região Anatómica”, com base nas categorias descritas nas Fig. 6 e 7
- ✓ A secção: “Secção Transversal” ou “Secção Longitudinal”

Figura 6- Divisões das regiões anatómicas do carpo e metacarpo em A secção transversal (adaptado de Rantanen et al., 2011) e B secção longitudinal (adaptado de Hodgson, McGowan and McKeever, 2013)

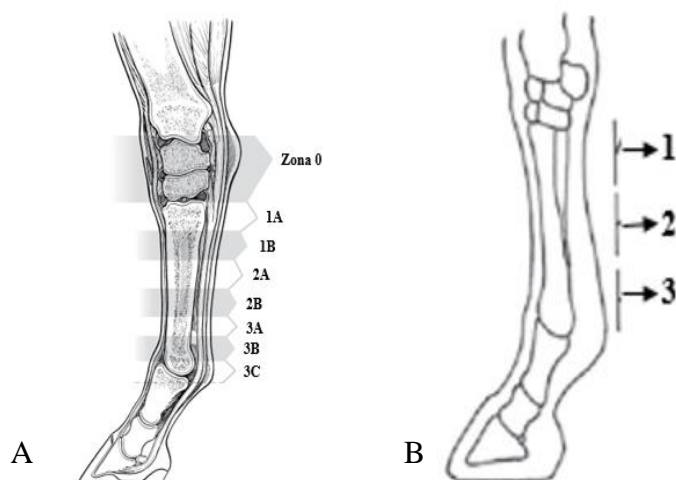
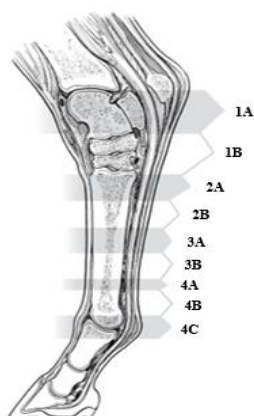


Figura 7- Divisões das regiões anatómicas do tarso e metatarso em secção transversal (adaptado de Rantanen et al., 2011)



A seguinte tabela (Tabela 3) enumera as medidas (M) escolhidas, onde cada uma delas é acompanhada de uma breve definição e respectivas categorias quando aplicável.

Os valores, das medidas escolhidas (M1 > M10), foram obtidos com recurso aos programas HORUS DICOM e Radiant DICOM.

Tabela 3- Medidas e respetiva definição, metodologia e categorização quando aplicável

Medida	Definição, metodologia e categorização quando aplicável
M1	Área total da estrutura, obtida na secção transversal, medido circundando cada tendão/ligamento obtendo assim a sua área em cm ² .
M2	Área de lesão, obtida na secção transversal, medido circundando a área de lesão obtendo-se o valor em cm ² .
M3	Área de lesão/área total da estrutura obtido através dos valores anteriormente referidos através da divisão da área de lesão pela área total da estrutura x 100 correspondendo esse valor à proporção de estrutura afetada.
M4 e M5	Ecogenicidade das secções transversais (M4) e longitudinais (M5) e esta foi classificada segundo Rantanen et al, numa escala de 0 a 3, correspondendo o 0 a isoecogénico, o 1 a ligeiramente hipoecogénico maioritariamente ecogénico, o 2 a mistura de ecogenicidades (50% ecogénico e 50% anecogénico) e por fim o nível 3 a maioritariamente anecogénico ou anecogénico.
M6	Espessura do tendão/ligamento afetado, obtido na secção longitudinal, e foi medido na vertical e em cm.
M7	Comprimento da lesão, obtido na secção longitudinal, e foi medido na horizontal tendo sido dividido em 14 categorias uma vez que haviam lesões que ultrapassavam a janela ultrasonográfica, correspondendo cada intervalo a 0.5, sendo que a categoria 1 compreende os valores entre 0.9-1.4 cm e a categoria 14 os valores entre 8.7-9.2 cm.
M8	Alinhamento das fibras, obtido na secção longitudinal, através da medição do ângulo das fibras que não apresentavam um padrão paralelo sendo este valor apresentado em graus.
M9	Espaço conjuntivo vascular, obtido na secção longitudinal, medido apenas nas ecografias correspondentes a lesões da origem ou corpo do LSB pois apenas nestes casos este parâmetro é visível e variável e foi medido em cm.
M10	Superfície óssea do metacarpo/metatarso e avaliada, na secção longitudinal, relativamente à presença ou não de alteração da mesma nas ecografias correspondentes a lesões do LSB, sendo que o 1 corresponde à superfície óssea sem alteração e o 2 à superfície óssea com alteração. Nos casos de lesão do LSB em que o parâmetro M10 não foi avaliado a razão foi o facto da secção obtida ser imediatamente a seguir à superfície óssea não permitindo visualizar a mesma.

Figura 8- Esquema referente aos parâmetros na secção transversal

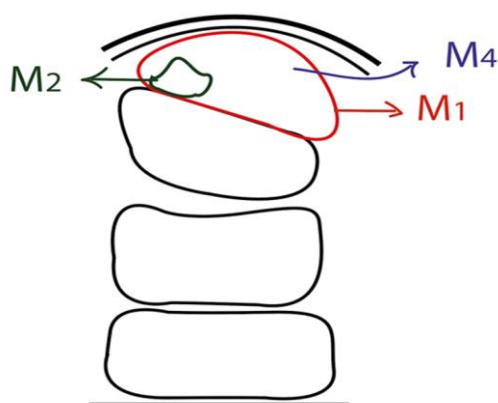
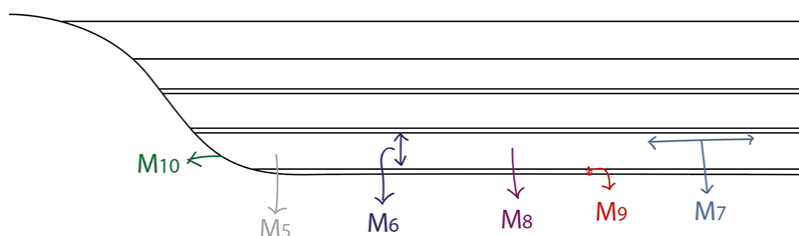


Figura 9- Esquema referente aos parâmetros na secção longitudinal



1.3. Abordagem clínica no diagnóstico e caracterização da claudicação

Os equinos foram examinados, após queixa por parte do cavaleiro, para avaliação da existência ou não de claudicação. Cada caso seguiu a abordagem convencional, começando pelo exame estático, teste de pinça de cascos, exame dinâmico e anestésias diagnosticas. O exame dinâmico foi apreciado em “linha reta”, “em círculo, para cada mão” e testes de flexão considerados positivos.

No exame dinâmico cada equino foi observado a passo e trote, em piso duro e mole, em reta e em círculo para ambos os lados, tendo a claudicação sido classificada na escala de 0 a 5 desenvolvida pela American Association of Equine Practitioners (AAEP). Os testes de flexão foram realizados após determinação do membro afetado, fazendo nos membros anteriores flexão do carpo e da articulação metacarpo-falângica e nos casos em que foi positivo fez-se flexão apenas da articulação metacarpo-falângica. Nos membros posteriores os testes de flexão realizados foram do curvilhão e do boleto ou só do boleto quando o primeiro deu positivo. Este teste consistiu em fletir a articulação desejada durante 1 minuto e de seguida observar se houve alteração da claudicação no trote em linha reta, tendo sido considerados positivos aqueles em que houve um agravamento da claudicação.

Em certos casos, em que a região afetada era evidente devido à presença de sinais de inflamação, não foi realizado exame dinâmico nem as anestésias. Nos casos em que o médico veterinário optou por realizar as anestésias, foi utilizado cloridrato de mepivacaína a 2% e agulhas de 25G com 5/8”, exceto no bloqueio da origem do LSB em que as agulhas utilizadas foram de 20G com 1”, sendo neste estudo apenas referenciado a anestesia ao qual se obteve melhor resposta por parte do equino e naqueles em que as anestésias realizadas foram negativas foram todos referenciados.

Os exames complementares de diagnósticos (radiografia e ecografia) foram realizados consoante o caso clínico, e foi registado a presença/ ausência de achados.

O exame radiográfico foi realizado com recurso ao aparelho FujiFilm FCR PRIMA T. Antes de realizar o exame ecográfico o membro lesado foi sujeito a tricotomia e lavagem e para fazer o exame ecográfico recorreu-se ao aparelho General Electrics® LOGIC e a uma sonda linear General Electrics® 12L-RS. Para visualizar estruturas mais superficiais utilizou-se um “pad” que permite obter melhor definição de estruturas mais superficiais como o TFDS. Estes exames foram realizados e interpretados pelos mesmos operadores, na amostra deste trabalho.

1.4. Protocolo para obtenção e administração de PRP utilizado

O material utilizado incluiu: tosquiadora elétrica, contenção química (sedação), material para desinfecção, sistema de vácuo, tubos de citrato, tubos secos, material para trabalhar de forma asséptica e uma centrífuga Sorvall RT6000B Refrigerated Centrifuge.. As figuras 8, 9, 10, 11 e 12, ilustram, parcialmente, este procedimento.

Procedimento:

1. Desinfecção da jugular, bem como tricotomia e desinfecção do membro que vai ser infiltrado;
2. Colher sangue, através do sistema de vácuo, para os tubos de citrato e colocar os mesmos no suporte de tubos;
3. Centrifugar os tubos durante 5 minutos a 120 g;
4. Retirar os tubos da centrífuga e proceder, com auxílio de agulhas e seringas, à colheita de 50% do sobrenadante junto à camada flogística;
5. Colocar esse sobrenadante em tubos secos e centrifugar os mesmos a 240 g durante 5 minutos;
6. Retirar os tubos da centrífuga e retirar 25% do conteúdo do fundo do tubo com auxílio de agulhas e seringas;

7. Infiltrar o PRP na zona de lesão com o auxílio do ecógrafo; a quantidade infiltrada foi consoante o grau de lesão e a quantidade de PRP obtido;
8. Fazer um penso compressivo.

Figura 10- Colheita de sangue da veia jugular

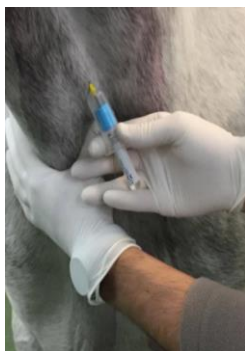


Figura 11- Suporte com os tubos de citrato após colheita de sangue

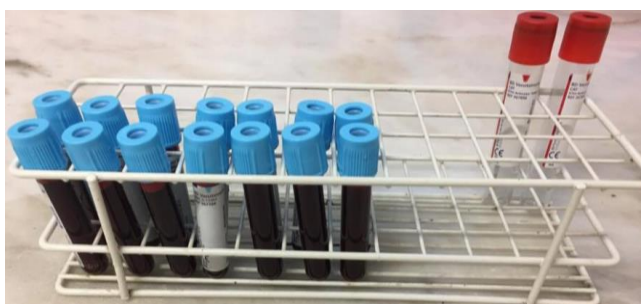


Figura 12- Tubos na centrífuga



Figura 13- Após a primeira centrifugação, a retirar 50% do sobrenadante junto à camada flogística

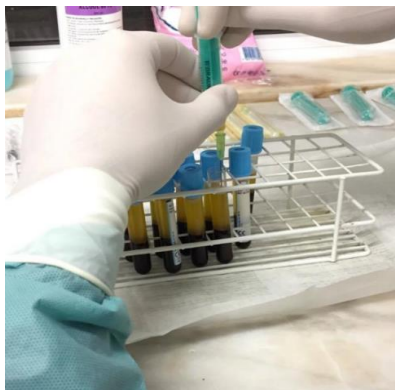
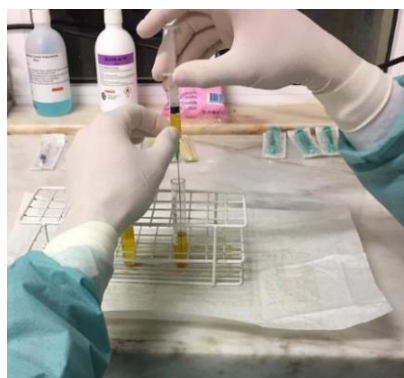


Figura 14- Após a segunda centrifugação, a retirar 25% do conteúdo do fundo do tubo



1.5. Plano de tratamento e reavaliação da lesão diagnosticada

Para cada lesão diagnosticada, foram registados os tempos que decorreram entre cada reavaliação, ecográfica ou clínica. O tempo foi designado pela letra “T”, estando designados os diferentes “T” como:

- T0: Tempo do 1º exame ultrassonográfico, e diagnóstico da lesão;
- T0 - T1: Tempo decorrido entre T0 e T1, em semanas, e descrição dos acontecimentos em forma de notas neste período;
- T1: Tempo do 2º exame ultrassonográfico, acompanhado da realização do tratamento de PRP e início período de reabilitação física;
- T1 - T2: Tempo decorrido entre T1 e T2, em semanas, e descrição dos acontecimentos em forma de notas neste período;
- T2: Tempo do 3º exame ultrassonográfico;

- T2 - T3: Tempo decorrido entre T2 e T3, em semanas, e descrição dos acontecimentos em forma de notas neste período;
- T3: Tempo do 4º exame ultrassonográfico;
- T3 - T4: Tempo decorrido entre T3 e T4, em semanas, e descrição dos acontecimentos em forma de notas neste período;
- T4: Tempo do 5º exame ultrassonográfico.

1.6. Protocolo de reabilitação utilizado após tratamento com PRP

Tabela 4- Protocolo de reabilitação da Clínica Veterinária Militar de Equinos

Semanas	Plano
1ª Semana	Andar a passo, à mão, duas vezes ao dia;
2ª Semana	Andar a passo, montado, duas vezes ao dia;
3ª, 4ª e 5ª Semanas	Andar a passo, montado, alternar uma vez com trote e terminar a passo aumentando progressivamente a duração do tempo a trote;
6ª, 7ª e 8ª Semanas	Andar a passo, montado, alternar uma vez com trote e galope e terminar a passo, aumentando progressivamente a duração do tempo a trote e a galope.

1.7. Repetibilidade das medidas selecionadas

Cada medida (M), de M1, M2, M6 e M8, foi medida 3 vezes, de modo aleatório e não estando identificadas, de modo a serem avaliadas, por 1 avaliador (V. S.) e sem conhecimento prévio da medida anteriormente atribuída, minimizando assim a influencia na interpretação dos resultados.

1.8 Análise estatística

Em resposta ao objetivo 1, em relação à evolução longitudinal de cada lesão, foram feitos gráficos para cada região anatómica com base na média dos valores obtidos em cada parâmetro, permitindo assim avaliar longitudinalmente cada lesão.

No que diz respeito à avaliação da repetibilidade das medidas selecionadas, foi calculado para cada parâmetro e dentro de cada região anatómica, o coeficiente de variação, medido em %, através do cálculo da média e respetivo desvio padrão permitindo assim identificar qual o parâmetro mais repetível, e consequentemente mais

fiável, de ser medido dentro de cada tipo de lesão. Neste objetivo 2, considerou-se como parâmetros mais fiáveis de serem medidos aqueles em que o coeficiente de variação não ultrapassou os 10% inclusive.

2. Resultados

2.1. Caracterização da amostra e anamnese

Tabela 5- Caracterização da amostra e anamnese

<i>Cavalo</i>	Raça	Idade (anos)	Sexo	Disciplina	Tempo de Ferração (semanas)	Tipo de Ferração
1	PSL	12	M	Ensino	2	Normal
2	PSL	19	M	CSO	4	Normal
3	PSL	18	F	CSO	5	Normal
4	PSL	13	M	CCE 2*	6	Normal
5	Cruzado Português	7	F	CSO	7	Normal
6	PSA	12	M	CSO	8	Normal
9	Cruzado Português	15	M	CSO	7	Normal

Legenda: PSL (Puro Sangue Lusitano); PSA (Puro Sangue Árabe); F (fêmea); M (macho); CSO (concurso de salto de obstáculos); CCE (concurso completo de ensino).

No início deste estudo, a amostra era constituída por nove indivíduos, no entanto 2 cavalos foram retirados durante o desenrolar do acompanhamento destes cavalos. O equino nº7 e o equino nº8 foram retirados do estudo uma vez que o equino nº7 faleceu antes de ser feito qualquer exame de controlo após tratamento com PRP e o equino nº8 foi para uma unidade de reprodução não tendo sido possível também realizar qualquer ecografia de controlo após o tratamento com PRP.

De um modo geral, no motivo de consulta, os cavaleiros relatam o aparecimento de uma claudicação do cavalo após uma sessão de trabalho.

2.2. Abordagem clínica no diagnóstico e caracterização da claudicação

Tabela 6- Abordagem clínica no diagnóstico e caracterização da claudicação

<i>Cavalo</i>	Local	Exame estático		Exame dinâmico (grau de claudicação)				Anestesias Diagnósticas *
		Presença de alteração física	Teste da pinça de cascos	Linha reta	Em círculo (mão esquerda)	Em círculo (mão direita)	Testes de flexão +: regiões	-
1	MPD MPE	Sem alterações	N	MPD:2	MPD:1	MPD: 2	Curvilhão e Boleto	Origem do LSB
2	MAD	Tumefação e dor: 1/3 distal da canela	-	-	-	-	-	-
3	MAD	Tumefação e calor na região da canela	-	-	-	-	-	-
4	MPE	Edema na canela e dor no 1/3 proximal canela	-	2	2	2	-	-
5	MAD MAE	Sem alterações	N	MAD:1	MAD: 1-2 (2 pisos)	MAE: 1-2 (2 pisos)	MAE & MAD: Carpo e Boleto	MAD: Origem do LSB MAE: Origem do LSB
6	MAD	Tumefação e dor na canela	N	0	1-2 (2 pisos)	0	-	Nenhumas das realizadas foram P
9	MAE	Tumefação e dor na canela	-	0	0	0	-	-

Legenda: MAE (membro anterior esquerdo); MAD (membro anterior direito); MPE (membro posterior esquerdo); MPD (membro posterior direito), N (negativo), P (positivo), LSB (ligamento suspensor do boleto). Grau de claudicação na escala de 0 a 5; – (não realizado). + (positivo), * Anestesias Diagnósticas significativas positivas.

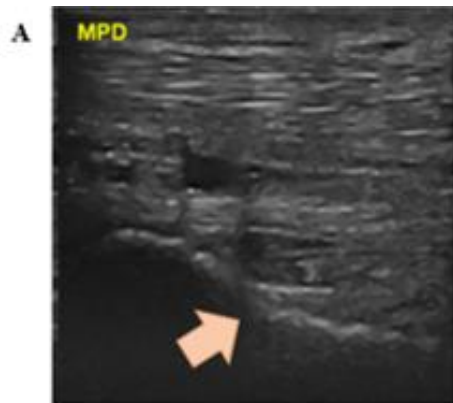
2.3. Exames complementares por Imagiologia Diagnostica e diagnóstico final

Tabela 7- Exames complementares por Imagiologia Diagnostica e diagnóstico final

Cavalo	Realização e achados aos exames			Lesão diagnosticada
	Radiográfico	Ultrassonografia	Imagens do exame ultrassonográfico correspondentes às figuras N°	
1	-	+	Ver Fig. 15	Origem do LSB do MPD e MPE
2	-	+	Ver Fig. 16	Ramo medial do LSB do MAD
3	-	+	Ver Fig. 17	LA-TFDP do MAD
4	-	+	Ver Fig. 18	Corpo do LSB do MPE
5	Sem achados	+	Ver Fig. 19	Origem e corpo do LSB do MAD e MAE
6	-	+	Ver Fig. 20	Corpo do LSB do MAD
9	-	+	Ver Fig. 21	TFDS do MAE

Legenda: - (ausente); + (presente); MAE (membro anterior esquerdo); MAD (membro anterior direito); MPE (membro posterior esquerdo); MPD (membro posterior direito); LA-TFDP (ligamento acessório do tendão flexor digital profundo); LSB (ligamento suspensor do boleto); TFDS (tendão flexor digital superficial).

Figura 15- Ecografia de diagnóstico da lesão na origem do LSB do MPD (A) e MPE (B), diagnosticada aquando da comparação do MPD com o MPE

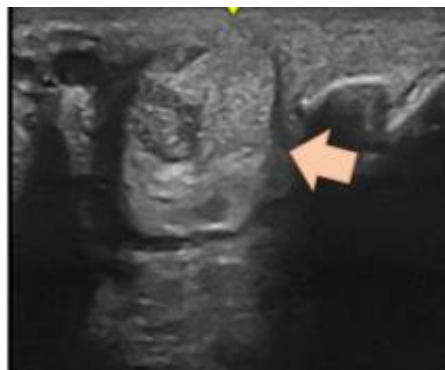


Legenda: a seta indica a estrutura afetada- origem do LSB



Legenda: a seta indica a estrutura afetada- origem do LSB

Figura 16- Ecografia correspondente ao diagnóstico de lesão do ramo medial do LSB do MAD



Legenda: a seta indica a estrutura afetada- ramo medial do LSB

Figura 17- Ecografia de diagnóstico de lesão do LA-TFDP do MAD



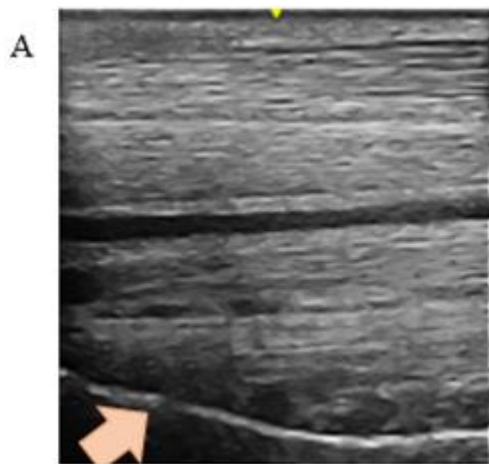
Legenda: a seta indica a estrutura afetada- LA-TFDP

Figura 18- Ecografia de diagnóstico de lesão do corpo do LSB MPE



Legenda: a seta indica a estrutura afetada- corpo do LSB

Figura 19- Ecografia de diagnóstico da lesão da origem e corpo do LSB do MAD (A) e MAE (B)



Legenda: a seta indica a estrutura afetada- origem do LSB nesta ecografia, estando também afetado o corpo do LSB



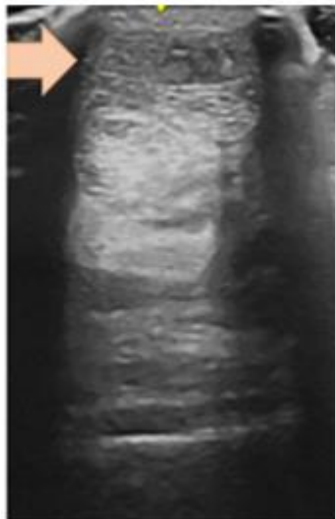
Legenda: a seta indica a estrutura afetada- origem do LSB nesta ecografia, estando também afetado o corpo do LSB

Figura 20- Ecografia de diagnóstico de lesão do corpo do LSB no MAD



Legenda: a seta indica a estrutura afetada- corpo do LSB

Figura 21- Ecografia de diagnóstico de lesão do TFDS no MAE



Legenda: a seta indica a estrutura afetada- TFDS

2.4. Plano de tratamento da lesão diagnosticada

Tabela 8- Plano de tratamento da lesão diagnosticada

<i>Cavalo</i>	T0	Tempo T0-T1 #	T1	Tempo T1-T2 #	T2	Tempo T2-T3 #	T3	Tempo T3-T4 #	T4	Tempo T4-T5 #
1	✓ US ✓ Ferração cor.*	4	✓ US + PRP ✓ Ferração cor.* ✓ Reabilitação*	4,5	✓ US	Retorno ao trabalho normal após 16 s	-	-	-	-
2	✓ US	1	✓ US + PRP ✓ Ferração cor.* ✓ Reabilitação*	4,5	✓ US	6,5	✓ US	9	✓ US	Retorno ao trabalho normal após 22 s
3	✓ US	0,5	✓ US + PRP ✓ Ferração cor.* ✓ Reabilitação*	4	✓ US	6,5	✓ US	Retorno ao trabalho normal após 14 s	-	-
4	✓ US	3	✓ US + PRP ✓ Ferração cor.* ✓ Reabilitação*	4	✓ US	3,5	✓ US	8	✓ US	Retorno ao trabalho normal após 20 s
5	✓ US	0,5	✓ US + PRP ✓ Ferração cor.* ✓ Reabilitação*	7	✓ US	Melhoria não significativa (1)	-	-	-	-
6	✓ US	2	✓ US + PRP ✓ Ferração cor.* ✓ Reabilitação*	5	✓ US ✓ PRP	5,5	✓ US	Retorno ao trabalho normal após 20 s	-	-
9	✓ US	1,5	✓ US + PRP ✓ Ferração cor.* ✓ Reabilitação*	6,5	✓ US	Trabalho reduzido	-	-	-	-

Legenda: US (realização de ultrassonografia); # tempo decorrido em semanas; * Reabilitação física deu início após cerca de 1- 4 dias do tratamento com PRP, associado a Ferração corretiva (Ferração cor.); s (semanas); PRP (plasma rico em plaquetas).

Notas aplicadas de um modo geral a todos os casos clínicos:

- ✓ Entre T0 e T1 administração de fenilbutazona na dose de 2.2mg/kg, por via oral, a cada 12 horas durante 5 dias
- ✓ Para lesões do LSB: aplicação de ferraduras de ramos afilados
- ✓ Para lesões do ramo medial do LSB: aplicação de ferraduras de ramos mediais mais largos
- ✓ Para lesões do LA-TFDP: aplicação de ferraduras fechadas
- ✓ Para lesões do TFDS: aplicação de ferraduras curtas de um arpão
- ✓ Em cada lesão foram infiltrados entre 1 a 4 mL de PRP, consoante a gravidade da lesão
- ✓ O protocolo de reabilitação executado foi o descrito nos materiais e métodos na tabela 4.

(1) O tempo de cada andamento foi aumentando de forma gradual, no entanto este equino, apesar de ter apresentado melhorias tanto a nível ecográfico como ao nível da claudicação, foi retirado do desporto devido ao carácter crónico da lesão.

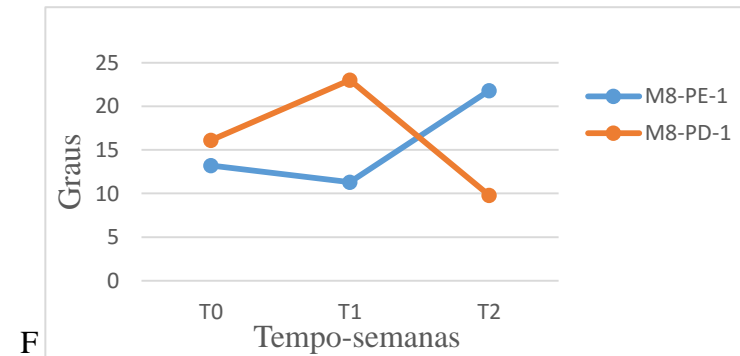
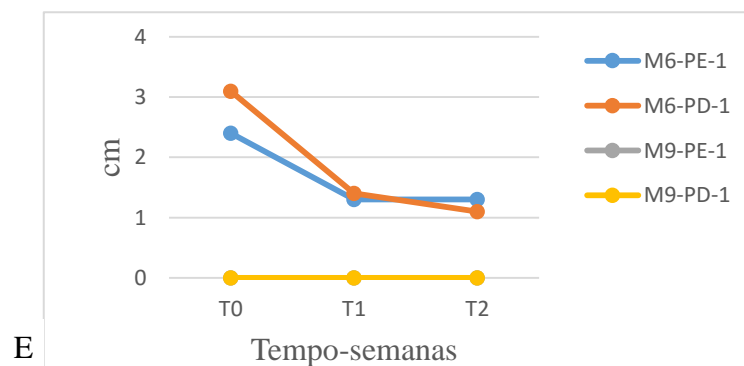
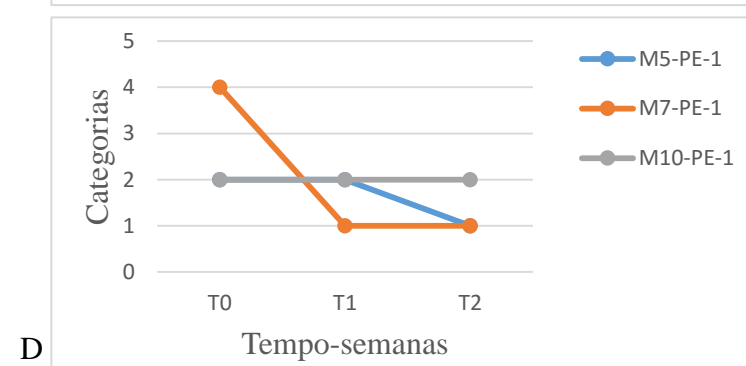
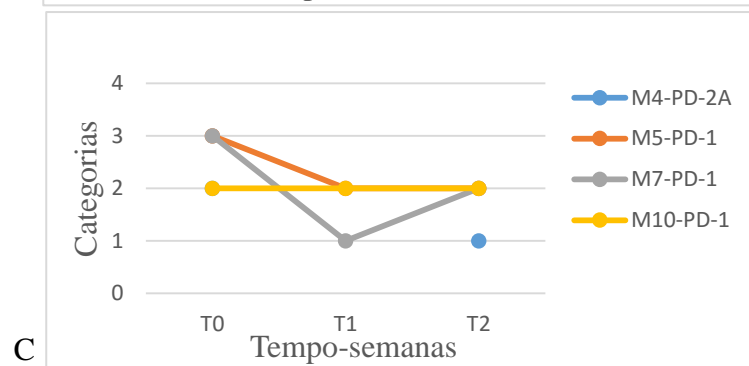
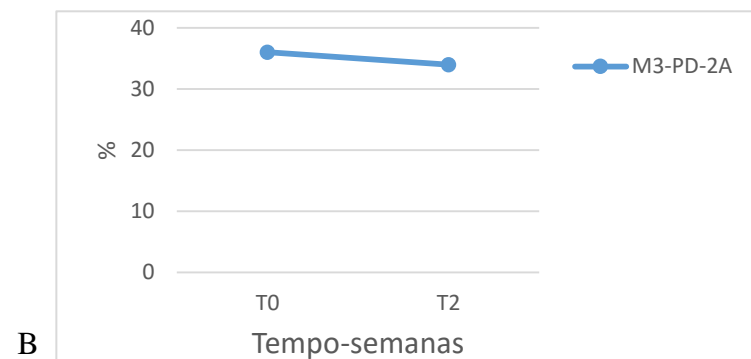
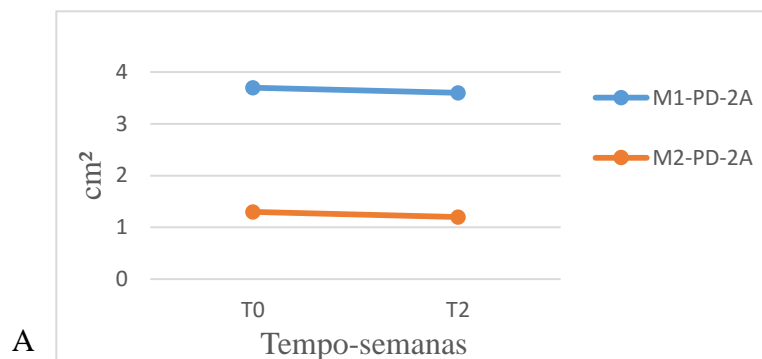
2.5. Evolução das medidas selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão

Tabela 9- Realização das medições dos parâmetros selecionados na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão por região anatômica em cada cavalo.

Cavalo	Região	Medidas									
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
1	1	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	2A	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
2	3	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	-	-
	3A	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
3	1B	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
	2A	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
4	2	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	-	-
	2A	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
5	2B	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓
6	2	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	-
	2A	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
9	1	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	-
	2	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	-
	1B	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
	2A	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
	1B	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	-	-
	2A	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-

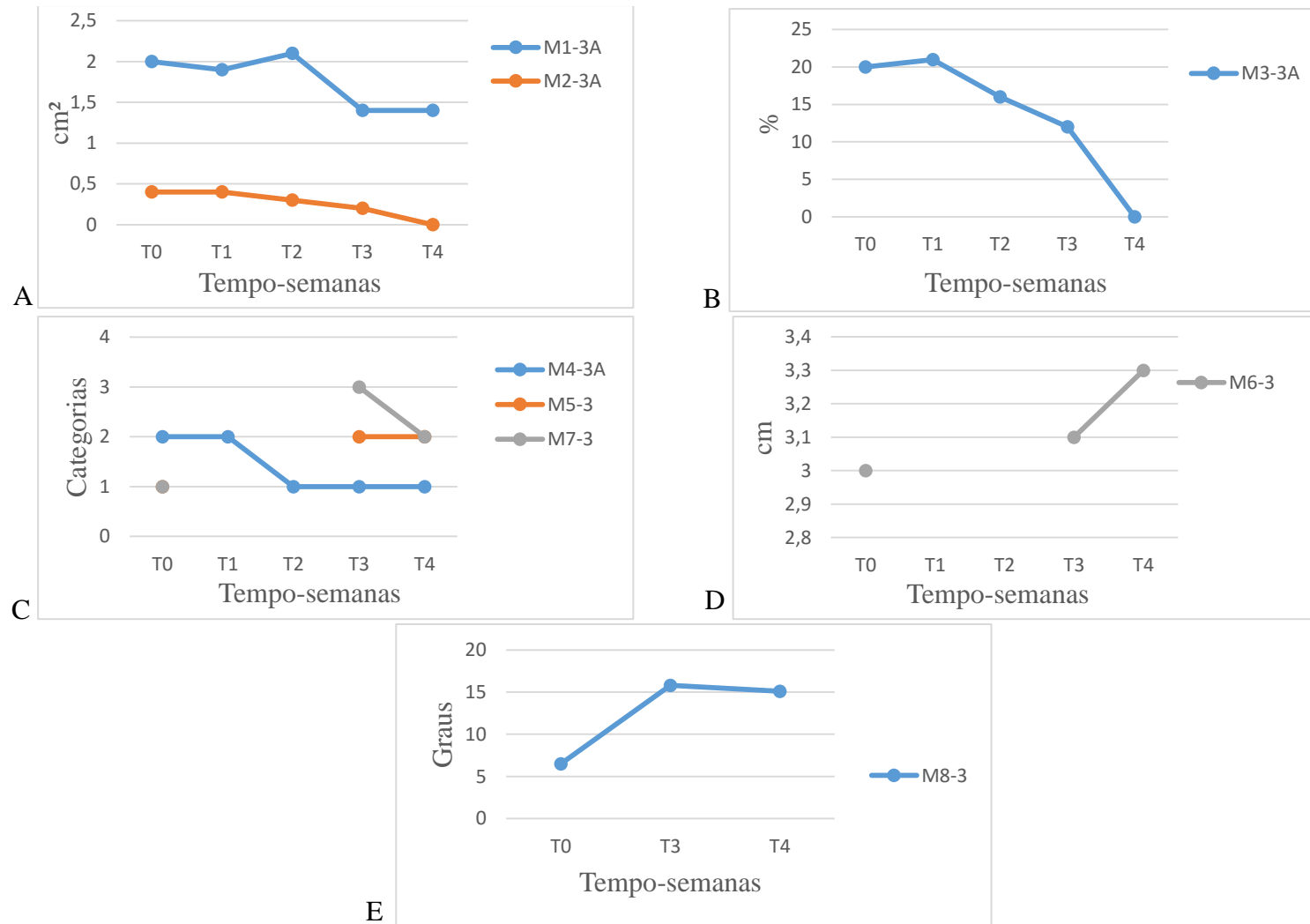
Equino 1

Gráfico 2(A-F): “Evolução longitudinal das medidas (M) seleccionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão na “Origem do ligamento suspensor do boleto (LSB) do membro posterior direito (MPD) e membro posterior esquerdo (MPE), para cada região avaliada”.



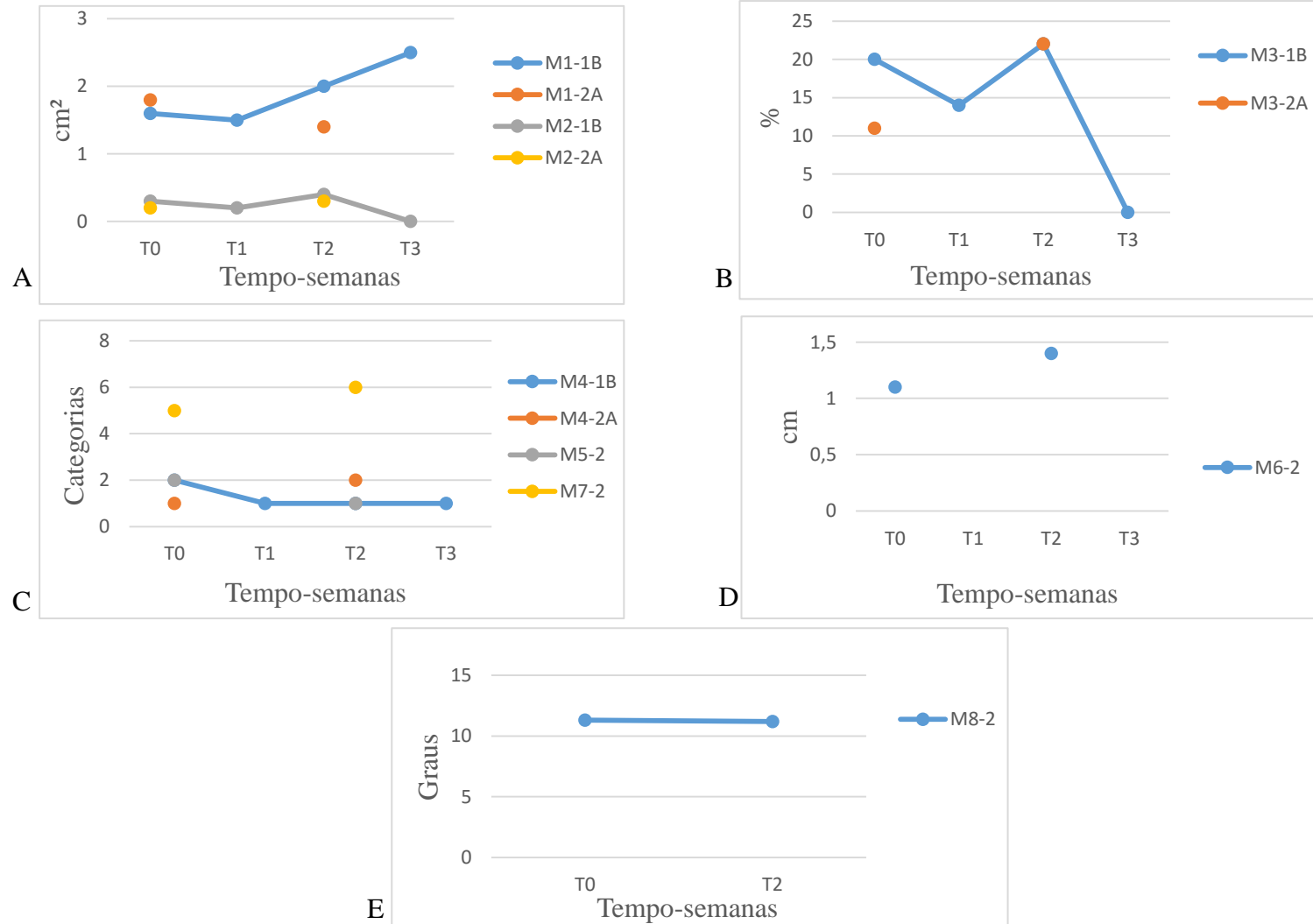
Equino 2

Gráfico 3 (A-E): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Ramo medial do ligamento suspensor do bolete (LSB) do membro anterior direito (MAD) para cada região avaliada”.



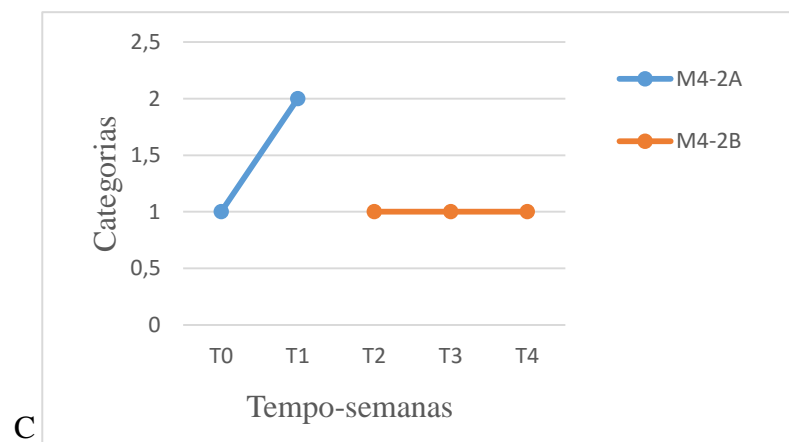
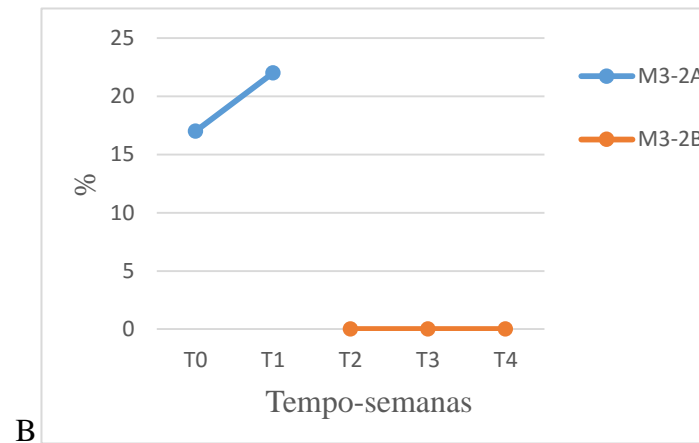
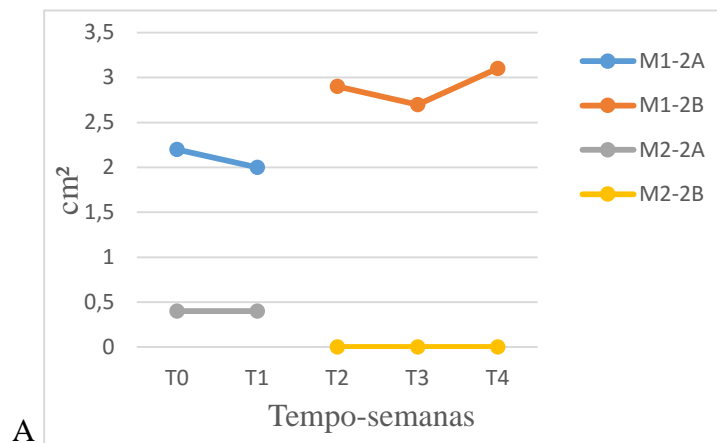
Equino 3

Gráfico 4 (A-E): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Ligamento acessório do tendão flexor digital profundo (TFDP) do membro anterior direito (MAD) para cada região avaliada”.



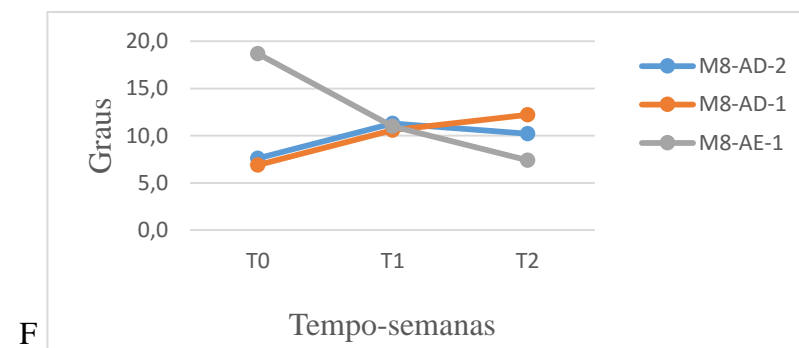
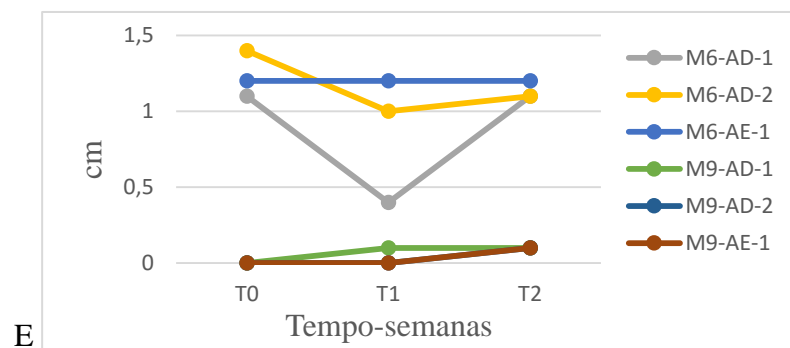
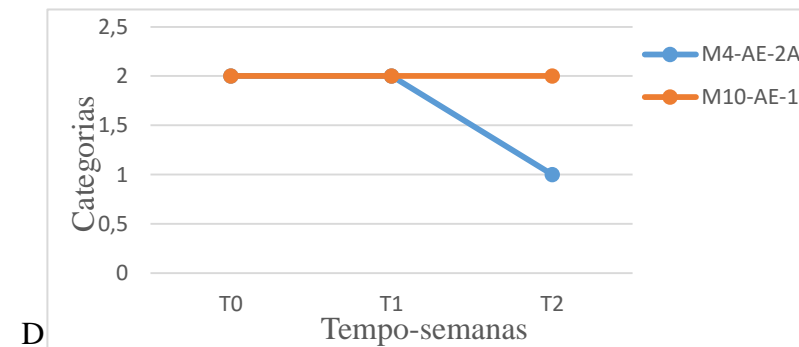
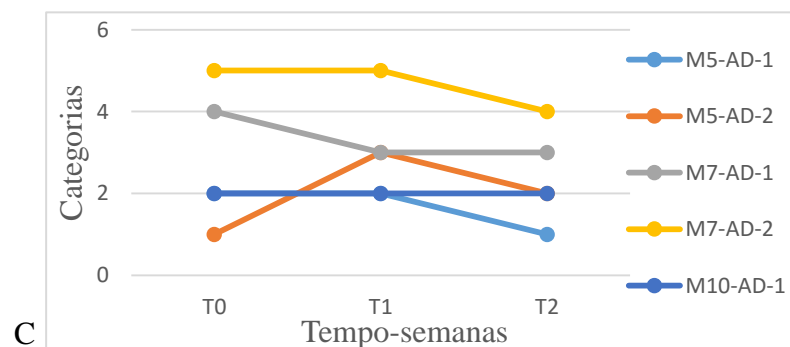
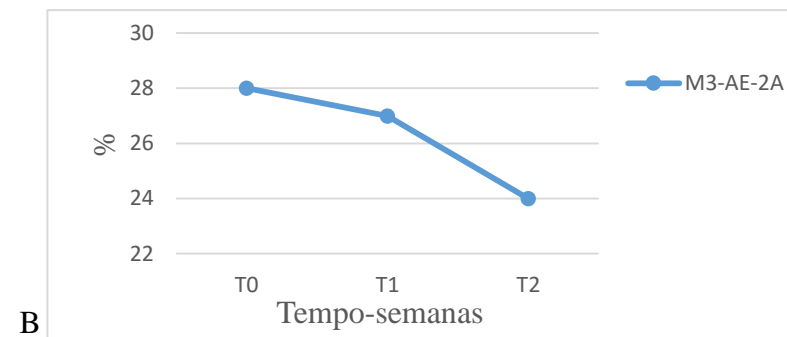
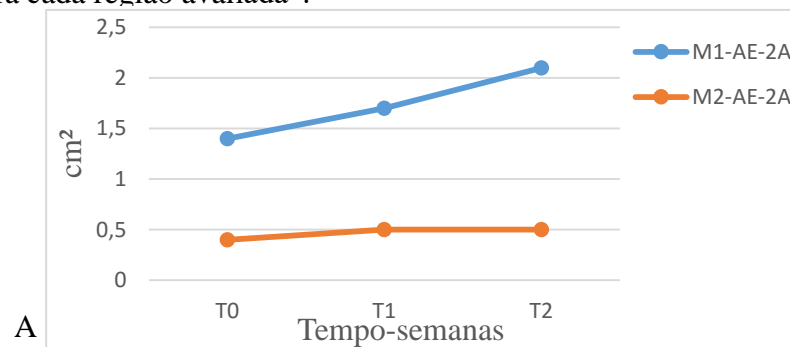
Equino 4

Gráfico 5 (A-C): “Evolução longitudinal das medidas (M) seleccionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Corpo do ligamento suspensor do boleto (LSB) do membro posterior esquerdo (MPE) para cada região avaliada”.



Equino 5

Gráfico 6 (A-F): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão na “Origem e corpo do ligamento suspensor do boleto (LSB) do membro anterior direito (MAD) e membro anterior esquerdo (MAE) para cada região avaliada”.



Equino 6

Gráfico 7 (A-E): “Evolução longitudinal das medidas (M) seleccionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Corpo do ligamento suspensor do boleto (LSB) do membro anterior direito (MAD) para cada região avaliada”.

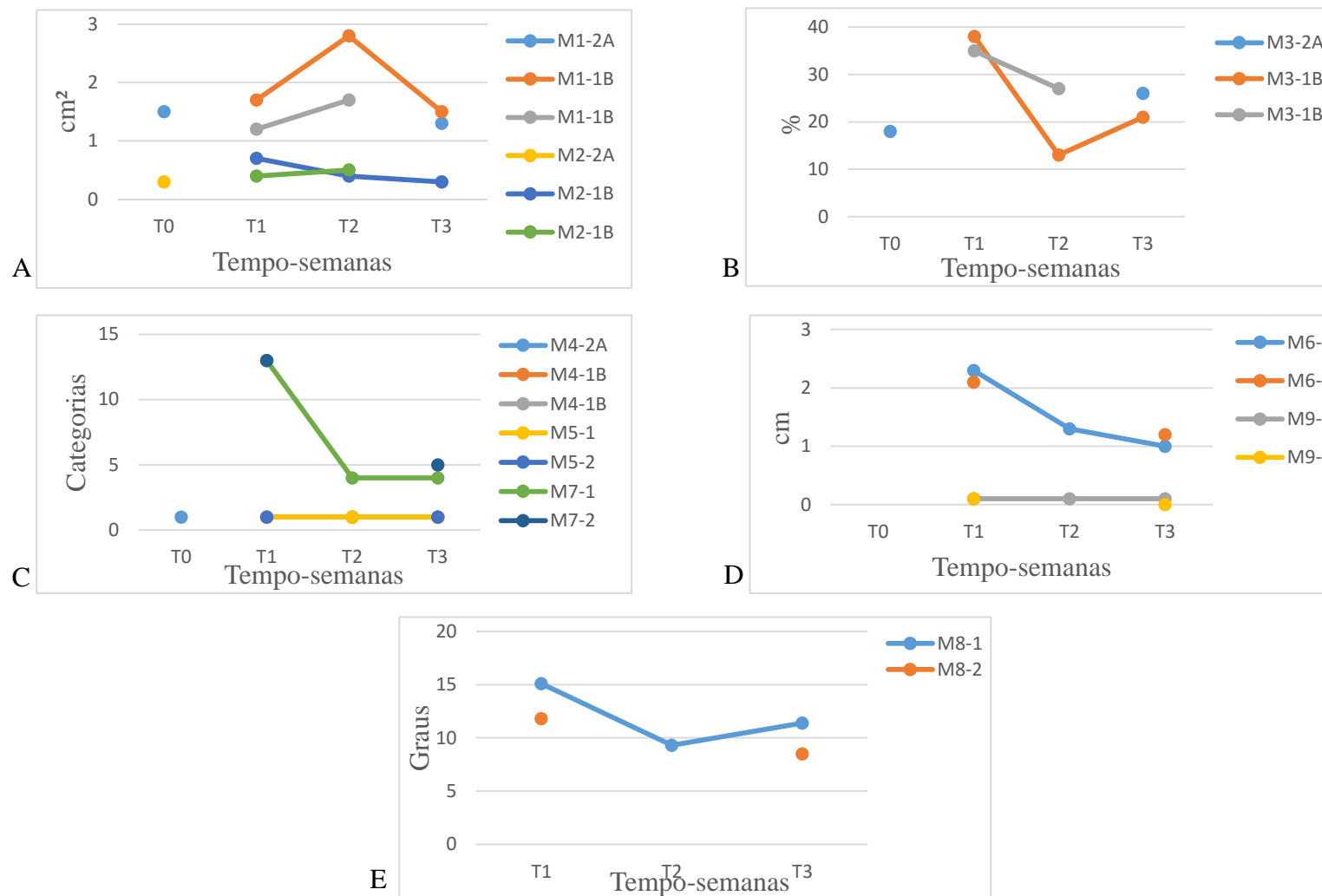
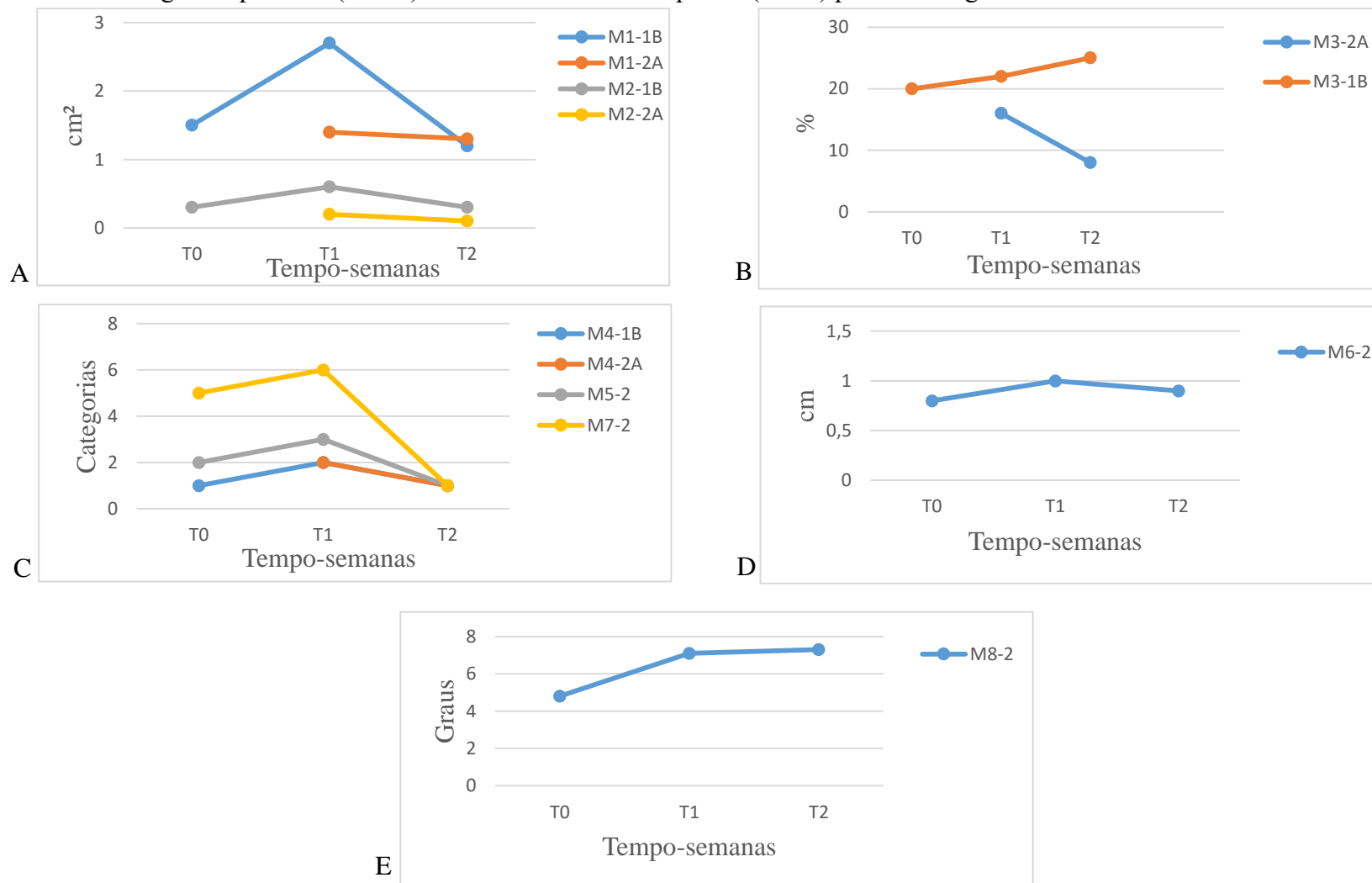


Gráfico 8 (A-E): “Evolução longitudinal das medidas (M) selecionadas na reavaliação ao exame ultrassonográfico da lesão no “Tendão flexor digital superficial (TFDS) do membro anterior esquerdo (MAE) para cada região avaliada”.



2.6. Repetibilidade das medidas selecionadas

Tabela 10- Repetibilidade das medidas selecionadas

<i>Cv</i>	Memb.	Parâm. & R. Anat.	T0	T1	T2	T3	T4
<i>1</i>	MPE	M1 – 2A	3.0±0.3 (10%)	-	-	-	-
		M2 – 2A	1.1±0.2 (18%)	-	-	-	-
		M6 - 1	2.4±0.1 (4%)	1.3±0.1 (8%)	1.3±0.1 (8%)	-	-
		M8 - 1	13.2±2.6 (20%)	11.3±0.5 (4%)	21.8±3.2 (15%)	-	-
	MPD	M1 – 2A	3.8±0.1 (3%)	-	3.6±0.3 (8%)	-	-
		M2 – 2A	1.3±0.5 (38%)	-	1.2±0.1 (8%)	-	-
		M6 - 1	3.1±0.4 (13%)	1.4±0.2 (14%)	1.1±0.1 (9%)	-	-
		M8 - 1	16.1±4.8 (30%)	23.0±0.8 (3%)	9.8±6.4 (65%)	-	-
<i>2</i>	MAD	M1 – 3A	2.0±0.1 (5%)	1.9±0.1 (5%)	2.1±0.0 (0%)	1.4±0.0 (0%)	1.4±0.1 (7%)
		M2 – 3A	0.4±0.0 (0%)	0.4±0.0 (0%)	0.3±0.1 (33%)	0.2±0.1 (50%)	0±0 Ind.
		M6 – 3	3.0±0.2 (7%)	-	-	3.1±0.1 (3%)	3.3±0.1 (3%)
		M8 - 3	6.5±3.5 (54%)	-	-	15.8±1.7 (11%)	15.1±0.7 (5%)
<i>3</i>	MAD	M1-1B	1.6±0.2 (13%)	1.5±0.2 (13%)	2.0±0.1 (5%)	2.5±0.1 (4%)	-
		M1-2A	1.8±0.1 (6%)	-	1.4±0.3 (21%)	-	-
		M2-1B	0.3±0.1 (33%)	0.2±0.0 (0%)	0.4±0.1 (25%)	0±0 Ind.	-
		M2-2A	0.2±0 (0%)	-	0.3±0 (0%)	-	-
		M6 - 2	1.1±0.1 (9%)	-	1.4±0.1 (7%)	-	-
		M8 - 2	11.3±3.6 (32%)	-	11.2±2.5 (22%)	-	-

Cv	Memb.	Parâm. & R. Anat.	T0	T1	T2	T3	T4
4	MPE	M1-2A	2.2±0.1 (5%)	2.0±0.1 (5%)	-	-	-
		M1-2A	-	1.8±0.1 (6%)	-	-	-
		M1-2A	-	2.7±0.1 (4%)	-	-	-
		M1-2B	-	-	2.9±0.1 (3%)	2.7±0.3 (11%)	3.1±0.2 (6%)
		M2-2A	0.4±0.1 (25%)	0.4±0.1 (25%)	-	-	-
		M2-2A	-	0.4±0.1 (25%)	-	-	-
		M2-2A	-	0.3±0.1 (33%)	-	-	-
		M2-2B	-	-	0±0 Ind.	0±0 Ind.	0±0 Ind.
5	MAD	M1-1B	-	-	2.0±0.1 (5%)	-	-
		M1-2B	1.5±0.1 (7%)	-	-	-	-
		M2-1B	-	-	0.4±0.1 (25%)	-	-
		M2-2B	0.3±0.1 (33%)	-	-	-	-
		M6-1	1.1±0.0 (0%)	0.4±0.3 (75%)	1.1±0.1 (9%)	-	-
		M6-2	1.4±0 (0%)	1.0±0.1 (10%)	1.1±0 (0%)	-	-
		M8-1	6.9±2.2 (32%)	10.6±1.6 (15%)	12.2±3.7 (30%)	-	-
		M8 - 2	7.6±1.7 (22%)	11.3±4.1 (36%)	10.2±5.8 (57%)	-	-
	MAE	M1 – 2A	1.4±0.1 (7%)	1.7±0.0 (0%)	2.1±0.1 (5%)	-	-
		M2 – 2A	0.4±0.1 (25%)	0.5±0.1 (20%)	0.5±0.0 (0%)	-	-
		M6 - 1	1.2±0.0 (0%)	1.2±0.2 (17%)	1.2±0.1 (8%)	-	-
		M8 - 1	18.7±2.5 (13%)	11.0±3.6 (33%)	7.4±1.7 (23%)	-	-

Cv	Memb.	Parâm. & R. Anat.	T0	T1	T2	T3	T4
6	MAD	M1-1B	-	1.7±0.1 (6%)	2.8±0.3 (11%)	-	1.5±0.1 (7%)
		M1-1B	-	1.2±0.1 (8%)	1.7±0.1 (6%)	-	-
		M1-2A	1.5±0 (0%)	-	-	-	1.3±0 (0%)
		M2-1B	-	0.7±0.1 (14%)	0.4±0.1 (25%)	-	0.3±0.2 (67%)
		M2-1B	-	0.4±0.1 (25%)	0.5±0.2 (40%)	-	-
		M2-2A	0.3±0.1 (33%)	-	-	-	0.3±0.1 (33%)
		M6-1	-	2.3±0.1 (4%)	1.3±0.1 (8%)	-	1.0±0.1 10%
		M6-2	-	2.1±0 (0%)	-	-	1.2±0.1 8%
		M8-1	-	15.1±1.0 (7%)	9.3±1.3 (14%)	-	11.4±3.8 (33%)
		M8-2	-	11.8±3.8 (32%)	-	-	8.5±1.1 (13%)
9	MAE	M1-1B	1.5±0.1 (7%)	2.7±0.1 (4%)	1.2±0.0 (0%)	-	-
		M1-2A	-	1.4±0.1 (7%)	1.3±0.1 (8%)	-	-
		M2-1B	0.3±0.0 (0%)	0.6±0.0 (0%)	0.3±0.0 (0%)	-	-
		M2-2A	-	0.2±0.1 (50%)	0.1±0 (0%)	-	-
		M6-1	0.8±0.2 (25%)	-	-	-	-
		M6-2	0.8±0.1 (13%)	1.0±0.1 (10%)	0.9±0.1 (11%)	-	-
		M6-3	-	1.2±0 (0%)	-	-	-
		M8-1	13.8±4.0 (29%)	-	-	-	-
		M8-2	4.8±0.9 (19%)	7.1±1.9 (27%)	7.3±1.7 (23%)	-	-
		M8-3	-	11.6±3.3 (28%)	-	-	-

Legenda: Memb. (membro); Param. & R. Anat. (Parâmetro medido e respetiva região Anatómica)

Nota: avaliação da repetibilidade das medidas selecionadas, foi calculado para cada parâmetro e dentro de cada região anatômica, o coeficiente de variação, medido em %, através do cálculo da média e respectivo desvio padrão permitindo assim identificar qual o parâmetro mais repetível, e consequentemente mais fiável, de ser medido dentro de cada tipo de lesão.

3. Discussão

Todos os casos clínicos abordados foram referentes a lesões do sistema músculo-esquelético, variando a estrutura afetada entre equinos, sendo que ao contrário do que está referido na bibliografia (Ely et al., 2004; Pinchbeck et al., 2004; Lam et al., 2007; Murray, Dyson, Tranquille, & Adams, 2006), as desmites ocorreram com maior frequência do que as tendinites, podendo isto dever-se à pequena dimensão da amostra, assim como à disciplina, pelo cavalo praticada.

Os sinais clínicos presentes foram sinais de inflamação como dor, calor e inchaço da zona afetada e segundo a bibliografia (Dahlgren et al., 2005b) estão presentes durante a fase aguda da lesão e nos casos abordados apenas o caso 1 e o caso 5 é que não apresentava sinais de inflamação, sendo este último devido à cronicidade inerente a este caso. Uma vez localizado o membro afetado, procedeu-se, no dia seguinte devido aos artefactos causados pela analgesia diagnóstica (Dyson, 2007), e de acordo com a bibliografia (Hills, 1996), à ecografia do membro lesionado, assim como do membro normal contralateral, para comparar o CSA das estruturas entre os dois membros, sendo que nas lesões bilaterais, como no caso 5, essa comparação não foi possível e no caso 1 só após fazer ecografia comparativa com o membro contralateral foi diagnosticada lesão nesse mesmo membro. O único caso em que foi feita radiografia foi no caso 5 devido ao seu carácter crónico que de acordo com a bibliografia (Dyson & Murray, 2007), pode estar associado a mineralização e/ou entesiopatia identificados por radiografia. De acordo com a bibliografia (Gillis, 2007) a localização de cada imagem foi registada.

Nas fases agudas da inflamação dos tendões/ligamentos, pode ser considerado o uso de anti-inflamatórios corticosteroides e não esteroides sistémicos, sendo normalmente usada a fenilbutazona na dose de 2.2mg/kg a cada 12 horas, no entanto os seus efeitos clínicos parecem ser mais analgésicos do que anti-inflamatórios (May & Lees, 1997). Nos casos apresentados só o caso 5 é que não foi feita terapia anti-inflamatória com fenilbutazona, devido ao seu carácter crónico, sendo que, nos casos em que esta foi feita, a via de administração foi a via oral, apesar de na bibliografia estar referida a administração sistémica. Como referido no capítulo 2.4, outra abordagem possível, é a administração de DMSO, tópico ou sistémico, que pode diminuir a inflamação (Albrechtsen & Harvey, 1982). Estudos revelam que para tendinites do TFDS a crioterapia, pressão e suporte são necessários, sendo que o frio na fase inflamatória aguda de lesões dos tendões é um importante aspeto do tratamento uma vez que é anti-inflamatório e ao mesmo tempo analgésico devido à sua

capacidade de causar vasoconstrição, diminuição da atividade enzimática, redução da formação de mediadores inflamatórios e reduz a condução nervosa (Petrov, MacDonald, Tesh, & Hoogmoed, 2003).

O tratamento aplicado em todos os casos clínicos foi o PRP, que está descrito como coadjuvante da cicatrização (Foster et al., 2009) e todos os equinos foram posteriormente ferrados, variando o tipo de ferração com a estrutura afetada, e inseridos num protocolo de reabilitação. Indo assim ao encontro da bibliografia (Gillis, 2007) que refere que devem ser feitas mudanças na ferração com o objetivo de proteger os tecidos moles lesionados e melhorar o bem-estar geral do animal, bem como andar a passo à mão, sessões breves uma a três vezes ao dia é recomendado, uma vez que se o animal estiver muito inativo é provável que ocorra, durante a cicatrização, encurtamento funcional da área lesionada, predispondo assim, mais tarde, a reincidência quando o equino voltar ao trabalho.

Num estudo feito por Zausher et al. (2013), para avaliar a precisão dos parâmetros de avaliação, com base nos resultados concluiu que o parâmetro de maior confiança para medir a dimensão do LSB proximal é o espessamento dorsopalmar obtido através da secção longitudinal seguindo-se o espessamento dorsopalmar obtido na secção transversal. As restantes medidas, como a largura, circunferência e a CSA, estão associadas a uma variação considerável tanto entre operadores como no mesmo operador. Nos casos clínicos foi comparado a precisão entre o espessamento dorsopalmar, referido anteriormente, de todas as estruturas afetadas, com a precisão do parâmetro referente à medição do ângulo das fibras, concluindo-se que para qualquer estrutura o parâmetro mais confiável foi o M6 (espessamento dorsopalmar, na secção longitudinal) à exceção do caso 1, MPD e MPE na zona da origem do LSB e caso 5, MAD também na origem do LSB, em que o M8 foi mais constante em algumas situações.

A razão das restantes medidas terem grande variabilidade pode ser devido a variadas razões como o facto de o LSB estar debaixo do TFDS, TFDP e LA-TFDP (Kirberger, 1995). A diferença em relação à largura entre o TFDS, TFDP e o LSB proximal torna impossível ver o aspeto abaxial do LSB proximal e assim sendo influência as medições. A baixa variabilidade da espessura dorsopalmar na secção longitudinal pode ser explicada pelo facto de ser possível determinar com precisão onde se faz a medição no plano sagital devido à clara perceção da conexão da fibra mais distal do LSB ao metacarpo/ metatarso III. Além disso a sombra criada no bordo pelas veias anastomóticas é uma das causas de variação da ecogenicidade mas na secção longitudinal os bordos do LSB não são normalmente afetados. Consequentemente as

medições são mais precisas no plano longitudinal do que no plano transversal onde o sombreado dos bordos causado pelo contacto limitado da pele afeta a avaliação dos bordos do LSB e por isso as medições são menos precisas (Zausher et al. 2013), sendo que nos casos clínicos apresentados verifica-se uma menor variabilidade no plano transversal podendo isso dever-se ao facto dos parâmetros ecograficamente medidos na secção transversal terem sido só o CSA da estrutura e o CSA da lesão, enquanto na secção longitudinal o facto de se ter tido em conta o ângulo das fibras, e este ter alguma variabilidade, poderá ter influenciado negativamente, no geral, a avaliação longitudinal.

Num estudo (Zausher et al., 2013), a variabilidade intra-operador foi semelhante para ambos os operadores nos membros anteriores, enquanto nos membros posteriores as medições de um dos operadores teve maior variabilidade comparando os dois operadores. Isto indica que quando as medições são obtidas nos membros posteriores, mais difíceis do que os membros anteriores, existem diferenças individuais na variabilidade até quando o nível de experiência entre operadores é comparável (Zausher et al., 2013), tendo-se verificado essa maior variação também nos membros posteriores (valores de coeficiente de variabilidade superiores) dos casos clínicos abordados e esta maior dificuldade em avaliar e medir o LSB proximal no membro posterior deve-se ao facto das estruturas estarem mais fechadas pelos metacarpos acessórios do que no membro anterior. Além disso os tendões, ligamentos e as veias anastomóticas entre o LA-TFDP e o LSB originam um sombreado no bordo. Este artefacto hipoeecogénico dificulta a avaliação e medição precisa dos bordos do LSB (Kirberger, 1995). Nos casos clínicos a espessura do LSB proximal deve ser obtida no plano parasagital e sagital porque as lesões estão localizadas maioritariamente nos lobos mediais e laterais respetivamente (Denoix et al., 2008).

Os dados do estudo feito por Zausher et al. (2013) levantaram a questão de saber se a comparação das medições com os valores de referência, mesmo quando as medições são feitas na secção longitudinal, são apropriados na avaliação do facto do LSB estar num estado fisiológico ou patológico. Em particular, o CSA, avaliado em todos os casos clínicos apresentados e considerado ser uma ferramenta extremamente valiosa no diagnóstico de alterações no LSB proximal (Reef, 1998; Whitcomb, 2004; Dyson & Genovese, 2011) e usado anteriormente no estudo do diagnóstico de desmíte do LSB proximal (Tóth et al., 2008) após avaliação não estava dentro do intervalo aceitável como medida confiável, o que enfatiza a importância da avaliação qualitativa, no entanto, na origem do LSB, a avaliação qualitativa pode ser muito desafiante como resultado de variações na qualidade da imagem e anatomia.

Nos presentes casos clínicos aqui abordados, o CSA, correspondente ao parâmetro M1, também não foi sempre considerado o parâmetro mais confiável entre M1 e M2 variando com o tempo e com a secção ecográfica avaliada. Aquando da avaliação cuidadosa das estruturas, a ecogenicidade, alinhamento das fibras, demarcação do bordo dorsal e o espaço entre o LSB proximal e o metacarpo/metatarso III e o LA-TFDP tem de ser avaliados (Dyson, 2007). A comparação entre o membro contralateral pode ajudar (Zausher et al., 2013).

O caso clínico 1 referente a um equino da disciplina de ensino, com desmíte na origem do LSB nos dois membros posteriores que segundo a bibliografia (Dyson, 2007) tem maior prevalência bilateral nos membros posteriores do que nos membros anteriores. Além disso é uma afeção que ocorre em cavalos de todas as disciplinas e em todas as idades, no entanto é um problema particular em cavalos de ensino (Murray et al., 2006) como é o caso deste equino. Este equino não apresentava quaisquer alterações e está descrito (Dyson, 2007) que equinos com desmíte proximal aguda do LSB podem ter um aumento localizado da temperatura, inchaço e dor aquando da aplicação de pressão no LSB, mas frequentemente não existem sinais clínicos localizados. O diagnóstico definitivo de desmíte proximal do LSB nos membros anteriores e posteriores pode ser desafiante e requer uma abordagem lógica combinando os achados clínicos com a analgesia diagnóstica e imagens diagnósticas multimodais (Labens, Schramme, Robertson, Thrall, & Redding, 2010; Nagy & Dyson, 2012). A claudicação foi mais evidente quando o membro afetado estava do lado de dentro do círculo estando assim de acordo com a bibliografia que refere que ao contrário do membro anterior, uma claudicação do membro posterior não é pior com o membro afetado no lado de fora do círculo e normalmente é mais óbvia em piso mole (Dyson, 2007; Dyson & Genovese, 2011), sendo que neste caso não houve diferença em relação ao piso mole e piso duro. Foi positivo à flexão do boleto e curvilhão e não foi tão positivo à flexão do boleto estando descrito que a flexão do membro afetado aumenta o grau de claudicação verificando-se isto particularmente nos membros posteriores onde as diferenças anatómicas podem exercer maior stress no ligamento (Dyson, 1991; Dyson, 2007; Schulze & Budras, 2008; Dyson & Genovese, 2011). Foi feito primeiro o bloqueio dos 6 pontos baixos no MPD ao qual melhorou cerca de 25% e foi no bloqueio da origem do LSB que foi 100% positivo e segundo Dyson (2007) a claudicação é normalmente substancialmente melhorada em 5 a 10 minutos após analgesia perineural de qualquer ramo profundo do nervo plantar lateral distal ao tarso (2 a 4 mL de mepivacaína a 2%) ou através de infiltração local axial ao metacarpo II e IV, mas pode não aliviar totalmente. No entanto não demonstrou claudicação no MPE após esse

bloqueio, apesar de ter sido detetado, aquando da comparação ecográfica com o membro contralateral, lesão na origem do LSB. Apesar de não ter mudado a claudicação, está descrito (Dyson, 2007) que nos equinos com pouca impulsão no membro posterior pode-se, teoricamente, esperar que se a dor de um membro for aliviada, o equino deve mostrar claudicação evidente no outro membro. Segundo a bibliografia (Smith, 2008b) as áreas hipoeogénicas presentes no LSB proximal são comuns em cavalos saudáveis e, portanto, o seu significado deve ser interpretado em conjunto com os sinais clínicos (inchaço e dor à palpação), ausentes neste caso, bem como analgesia local diagnóstica. Neste caso a lesão de ambos os membros era evidente, apesar de estar descrito que em equinos com lesão bilateral da origem do LSB pode ser detetável uma lesão óbvia no membro que claudica, mas as alterações podem ser mais subtis e ocasionalmente não serem detetadas no membro que claudica menos (Dyson, 2007). As características ultrassonográficas neste tipo de lesão são: aumento do LSB, má definição das margens (especialmente dorsalmente), única ou múltiplas áreas hipoeogénicas focais mal definidas, hipoeogenicidade difusa e irregularidade da superfície palmar do metacarpo/metatarso proximal, a qual é indicativa de entesiofitos (Smith, 2008b), sendo que, especificamente neste caso, verificou-se alteração da superfície óssea, zonas hipoeogénicas focais mal definidas, aumento do LSB, margens do LSB mal definidas, bem como hipoeogenicidade difusa. Como este caso trata-se de um equino utilizado no ensino e devido ao facto de ser necessário continuar a trabalhar, a claudicação foi gerida com fenilbutazona e ferração indicada para lesões do LSB, respetivamente com ferraduras de ramos afilados nos MP que permitem um maior afundamento dos talões, uma vez que equinos com lesões do LSB deverão ser idealmente ferrados com ferraduras que permitam o afundamento dos talões mais profundamente (Coleman, 2016). Segundo Dyson, 2007, alguns equinos tem trabalhado satisfatoriamente enquanto são tratados com fenilbutazona, sem aparente deterioração dos sinais clínicos. Assim parece que em alguns equinos o LSB lesionado pode suportar carga e trabalho normal, desde que a dor seja gerida. Posteriormente, foram infiltrados 2 mL de PRP em cada lesão, sendo que a quantidade ótima do PRP, é uma das limitações associadas ao seu uso uma vez que ainda não está definida (Marx, 2004). De seguida, e uma vez que o animal apenas manteve a ferração anteriormente aconselhada, foi implementado um protocolo igual para todos os casos, com adaptações conforme a evolução da lesão estando descrito que embora a estabilidade do sítio da lesão seja necessária, a mobilidade é crucial e a carga mecânica, que está associada com o movimento do tendão a cicatrizar, diminui a formação de adesões pós operação e aumenta a resistência (Flynn & Graham, 1965; Peacock, 1965; Furlow, 1976; Manske, Gelberman, & Lesker, 1985;

Montgomery, 1989; Goodship et al., 1994; Beredjikian, 2003; Ingraham, Hauck, & Ehrlich, 2003; Sharma & Maffulli, 2005). Neste caso o equino tratado com PRP voltou ao trabalho ao fim de 4 meses e normalmente demora entre 6 a 8 meses. A qualidade do programa de reabilitação influencia fortemente o resultado final, e por isso essa importância deve ser salientada (Gillis, 2004). Na nossa avaliação da lesão por ultrassonografia, destacaram-se sobretudo, no sentido de regressão da lesão, as medidas M3, M7 e M6. Apesar das regiões anatómicas não serem sempre as mesmas, a identificação destas medições, quando comparado com a evolução das restantes medidas selecionadas, também foram assinaladas noutros estudos realizados e acima mencionados. No que diz respeito a repetibilidade das medidas avaliadas, verificou-se que M1, de modo bilateral, e M6, foram as medidas onde se verificou maior fiabilidade de medição. Na última ecografia realizada, apresentou melhorias em relação às alterações anteriormente referidas, mantendo-se a superfície óssea irregular.

O caso clínico 2 diz respeito a um equino de obstáculos 1.10m com lesão no ramo medial do LSB MAD. Está descrito (Smith, 2008b) que a desmíte dos ramos do LSB é a lesão mais comum deste em equinos de desporto. Apesar de neste caso apenas estar afetado o ramo medial, nos membros anteriores a desmíte biaxial tem maior incidência, enquanto nos membros posteriores a lesão mais comum do LSB é desmíte do ramo lateral. Uma “*core lesion*” (lesão central) ou um envolvimento generalizado do ramo, juntamente com aumento, é visível na ecografia. Este equino apresentava inchaço e dor à palpação do MAD, estando descrito que os sinais clínicos dependem do grau dos danos e da cronicidade da lesão e inclui aumento localizado da temperatura e inchaço, sendo este muitas vezes devido ao aumento do ramo, juntamente com edema periligamentar ou fibrose (Dyson, 2007). Está também descrito que alguns equinos apresentam distensão aguda da cápsula da articulação metacarpo falângica e desmíte do ramo do LSB. Isto está associado com a posição sinovial de aproximadamente o terço distal dos ramos do LSB e o potencial para rotura das fibras axiais dentro do ambiente sinovial (Minshall & Wright, 2006). Em relação ao diagnóstico definitivo, este foi obtido com base nos sinais clínicos e na ecografia, não tendo sido realizado exame dinâmico nem bloqueios anestésicos para não estar a forçar mais as estruturas, estando assim de acordo com a bibliografia (Dyson, 2007) que refere que o diagnóstico é baseado nos sinais clínicos e no exame ultrassonográfico e as anestésias diagnosticas locais não são normalmente necessárias. Os sinais ecográficos verificados foram aumento do tamanho da estrutura, perda de definição das margens, uma zona hipoeecogénica bem definida perifericamente e focos hipereecogénicos, indo assim ao encontro do que está descrito na bibliografia (Dyson, 2007) faltando apenas

referir que também podem ocorrer alterações da forma do ramo, apesar de isso não se ter verificado neste caso e a zona hipoecogénica também pode surgir no centro. A quantidade de PRP infiltrado foram 4 mL, que como já foi referido a quantidade ótima de PRP é uma das limitações associadas ao seu uso uma vez que ainda não está definida (Marx, 2004). Foi ferrado nos MA com ferraduras de ramos mediais mais largos. De seguida o equino iniciou um plano de reabilitação que como já foi referido é crucial para o resultado final. Mais uma vez, foram as medidas M1 e M6, as que mostraram uma variação de medição menor, a qual variou entre os 0 e 7%. Na última ecografia, verificou-se uma diminuição do CSA da estrutura, ainda alguma perda de definição das margens, a zona hipoecogénica bem definida perifericamente e os focos hiperecogénicos já não estavam presentes. Esta diminuição do CSA foi em parte exprimida pela medida M3, a qual manifestou ser a medida eleita, em termos de medida mais representativa da regressão da lesão, quando comparado com as medidas disponíveis e as estudadas no presente estudo. A medida M2, embora menor, também apresentou uma evolução favorável com a regressão da lesão, como podemos ver no gráfico 3. O equino regressou ao trabalho ao fim de 5.5 meses de recuperação.

O caso clínico 3 é relativo a uma lesão do LA-TFDP no MAD, a qual segundo Dyson e Ross (2011) é pouco reportada, no entanto é muito comum nas seguintes disciplinas: obstáculos, ensino, pôneis de polo e outras raças trotadoras, árabes e cruzados de árabe, atrelagem e competição de pôneis (Dyson, 2011). Está descrito que geralmente é unilateral nos MA embora ocasionalmente ocorra bilateralmente, sendo uma causa rara de claudicação nos MP (Dyson, 2011). Como sinais clínicos tinha o MAD quente e muito inchado na zona da canela e o início da claudicação foi após um concurso, estando descrito na bibliografia (Dyson, 2011) que as desmites agudas do LA-TFDP normalmente apresentam uma história de claudicação moderada a severa de início súbito. Além disso, o terço proximal do metacarpo está normalmente inchado e quente e a palpação dessa região é dolorosa. No entanto, segundo Dyson (2012) os equinos com claudicação dos membros anteriores tem uma duração da claudicação, antes do diagnóstico, mais longa e sem sinais clínicos localizados, estando o diagnóstico dependente da resposta à analgesia, não executada neste caso, e ultrassonografia. A ausência de aumento palpável pode, em parte, estar relacionado com a influência do confinamento por parte do retinaculum palmar do carpo, o qual pode também obscurecer o inchaço associado a lesões proximais do TFDS (Ross, Genovese, Dyson, & Jorgensen, 2011). Em relação à ecografia, está descrito (Beerts et al., 2013) que é uma valiosa e prática ferramenta para confirmar o diagnóstico e pode ser notado uma diminuição da ecogenicidade

do ligamento e, na maioria, dos casos há falta de margens circunscritas, como verificado no caso em questão. Foi infiltrado na zona da lesão 4 mL de PRP e ferrado com ferraduras fechadas que permite que haja uma elevação dos talões, estando de acordo com a bibliografia que refere que uma lesão do LA-TFDP necessita que haja uma elevação dos talões (Richter, 2017). Ao longo da avaliação temporal por ultrassonografia, neste caso clínico, destacou-se, á semelhança do caso previamente descrito, a medida M3. Associado a esta, as medidas M1 e M4 também manifestaram uma evolução relacionada com a involução da lesão do LA-TFDP. Neste caso, em particular foi sobretudo M2 e M6, que comprovaram ter uma variação do coeficiente de variação inferior aos 10%. Seguiu-se o protocolo de reabilitação já anteriormente referido. Na última ecografia já não foi possível delimitar a área de lesão hipoecogénica, no entanto as margens ainda não estavam bem definidas, na secção 1B e 2 houve aumento do CSA e da espessura do ligamento respetivamente. O tempo de recuperação foi de 3.5 meses desde o diagnóstico.

No caso clínico 4, foi diagnosticada uma lesão no corpo do LSB no MPE. Trata-se de um equino de CCE 2*, sendo que segundo Dyson, Arthur, Palmer e Richardson (1995) e Colbourne e Yovich (1994) a desmite do corpo do LSB é uma lesão principalmente de equinos de corridas. A desmite do corpo do LSB são menos frequentes, exceto se associado com exostose do metacarpo II ou IV ou como sequela de lesão do ramo. Esta lesão ocorre nos membros anteriores e posteriores (Dyson et al., 1995; Colbourne & Yovich, 1994), sendo que neste caso o membro afetado é o MPE. Ao exame estático apresentava edema no MPE desde o curvilhão até à quartela, bem como dor à palpação do terço superior do LSB e segundo Dyson e Genovese (2011) a dor à palpação do LSB não é sinónimo de dano na estrutura. Segundo os mesmos autores, os sinais clínicos associados a esta afeção são: aumento localizado da temperatura, edema periligamentar, inchaço severo dos tecidos moles adjacentes que pode tornar a palpação cuidadosa do LSB difícil, arredondamento das margens do LSB, aumento do corpo do LSB, dor à palpação das margens do LSB, rigidez anormal do LSB, dor à palpação do terço distal do metacarpo II ou IV no caso de existir fratura, claudicação, no entanto a ausência desta não impede que haja desmite clinicamente significativa e hiperextensão da articulação do boleto. Apresentava uma claudicação 2/5 do MPE em linha reta e no círculo para as duas mãos e tanto em piso mole como em piso duro, não estando de acordo com a bibliografia que refere que uma claudicação do membro posterior é pior com o membro afetado no lado de dentro do círculo e normalmente é mais óbvia em piso mole (Dyson, 2007; Dyson & Genovese, 2011). Segundo Dyson e Genovese (2011) existe

frequentemente fraca correlação entre a extensão da lesão e o grau de claudicação. No entanto, o desempenho desportivo pode estar comprometido apesar da falta de evidência de claudicação. Não foram realizadas quaisquer anestésias diagnósticas para não estar a forçar mais o animal e além disso já apresentava sinais que indicavam a zona afetada e segundo Dyson e Genovese (2011), as analgesias diagnosticas raramente são necessárias, a não ser que haja suspeita de outra causa de claudicação ou de recorrência de desmite. Segundo Dyson e Genovese (2011), ecograficamente este tipo de lesão tem as seguintes características ecográficas: aumento do corpo do ligamento no plano transversal e mediano, perda de definição de uma ou mais margens do ligamento, áreas focais hipoeecogénicas, à periferia ou centrais, as quais se estendem a uma distância variável proximodistalmente, redução difusa na ecogenicidade de alguns ou todos os CSA do ligamento e por último, equinos com desmitos crónicos as áreas hipereecogénicas focais correspondem a fibrose e mineralização. Ecograficamente apresentava aumento do CSA do LSB, má definição das margens, redução da ecogenicidade e área hipoeecogénica focal à periferia. Apesar desta limitação na avaliação do LSB, a única medida identificada associada a uma regressão da lesão, do corpo do LSB, tenha sido a medida M1. Esta foi a medida de eleição, em termos de consistência na sua medição, feita pelo autor do presente trabalho. Uma vez que as verdadeiras desmitos do LSB variam no tempo, para confirmar é útil repetir o exame (Smith, 2008b). Foram infiltrados 4 mL de PRP na lesão e posteriormente ferrado com ferraduras de ramos afilados nos MP que permitem um maior afundamento dos talões, uma vez que equinos com lesões do LSB deverão ser idealmente ferrados com ferraduras que permitam o afundamento dos talões mais profundamente (Coleman, 2016). O equino iniciou o protocolo de reabilitação já anteriormente referido e na última ecografia apresentava áreas hipereecogénicas e alguma perda difusa de ecogenicidade. Ao fim de 5 meses do diagnóstico o equino estava recuperado da lesão apesar de não ter voltado ao nível de competição anterior à lesão, por opção do cavaleiro.

No caso clínico 5, foi diagnosticada lesão bilateral da origem e corpo do LSB nos MA apesar de estar descrito (Dyson, 2007) que a lesão bilateral da origem do LSB é mais comum nos membros posteriores e nos MA pode resultar em perda de ação em vez de evidenciar a claudicação. Este equino é de obstáculos e está descrito (Dyson, 2007) que a lesão da origem do LSB nos MA pode surgir em qualquer disciplina. No exame estático não foram observadas quaisquer alterações, uma vez que se trata de um equino em que a lesão em questão já tem alguma cronicidade e os sinais clínicos descritos (Dyson, 2007) para este tipo de lesão nos

MA são referentes à fase aguda das lesões como: ligeiro edema na porção proximal do metacarpo, aumento localizado da temperatura e distensão da veia palmar medial, podendo estes sinais serem transitórios ou estarem ausentes. No exame dinâmico em linha reta apenas foi detetada claudicação 1/5 do MAD e em círculo em piso duro a claudicação era de 1/5 do membro localizado no lado de fora do círculo, passando para 2/5 em piso mole, estando assim de acordo com a bibliografia (Dyson, 2007) que refere que a claudicação é pior em piso mole, especialmente com o membro lesado no lado de fora do círculo e quando subtil pode ser mais facilmente sentida pelo cavaleiro do que pelo observador. Ocasionalmente, a claudicação só é visível quando montado, algumas vezes com o membro do lado de dentro do círculo. Foi positiva à flexão do carpo e articulação metacarpofalângica em ambos os membros anteriores e está descrito (Dyson, 2007), que a claudicação devido a desmite proximal do LSB é muitas vezes acentuada transitoriamente através da flexão distal do membro, possivelmente devido ao facto do LSB relaxar durante a flexão e depois é esticado quando o membro é novamente apoiado. De seguida, foram feitos bloqueios de distal para proximal sendo que só no bloqueio da origem do LSB nos dois MA é que foi 100% positivo e está descrito (Dyson, 2007) que a analgesia perineural de qualquer nervo palmar lateral (2 mL de mepivacaína) ou do nervo palmar medial e lateral do metacarpo (2 mL por local) deve resultar numa melhoria substancial ou alívio da claudicação em 5 a 10 minutos caso a desmite da origem do LSB seja a única razão da claudicação. Dyson (2003) defende que uma resposta positiva deve ser considerada para diagnóstico de dor proximal palmar/plantar do metacarpo/metatarso em vez de desmite da origem do LSB até achados anormais nas imagens suportarem o diagnóstico. Neste caso o CSA do ligamento, previamente assinalada pela medida M1, aumentou ao longo do tempo, bem como o CSA da lesão, correspondendo à medida M2, podendo isto estar relacionado com o facto deste caso já ter alguma cronicidade. Neste caso em particular também se verificou uma diminuição de M3 ao longo do tempo. A espessura do LSB medida na secção longitudinal (equivalente à medida M6) no MAD diminuiu aumentando posteriormente e no MAE manteve-se constante. Na origem do LSB verificou-se uma hipoeogenicidade difusa, irregularidade óssea da superfície palmar do metacarpo nos dois MA, zona hipoeogénica mal definida no MAD, múltiplas áreas hipoeogénicas focais mal definidas e margens do ligamento mal definidas em ambos os membros, estando de acordo com o descrito por Smith (2008b) que descreveu as características ultrassonográficas como: aumento do LSB, má definição das margens (especialmente dorsalmente), únicas ou múltiplas áreas hipoeogénicas focais mal definidas, hipoeogenicidade difusa e irregularidade da superfície palmar do metacarpo/metatarso proximal, a qual é indicativa de entesiofitos (Smith,

2008b). As medidas representativas da avaliação da ecogenicidade foram M4 (na secção transversal) e/ ou M5 (na secção longitudinal). Efetivamente, estas medidas M4 e M5, figuraram entre as medidas que se destacaram no acompanhamento da involução da lesão, juntamente com as medidas M7, M3 e M6. Embora, não tenham sido todas identificadas como medidas eleitas, as medidas M1 e M6, foram novamente as que se destacaram em termos de menor coeficiente de variação durante a repetição de medição. A desmíte do corpo do LSB foi também descrita por Smith (2008b) e caracteriza-se normalmente por uma hipoecogenicidade generalizada e aumento do ligamento, sendo isto verificado no caso em questão. A quantidade de PRP infiltrado foi de 1 mL em cada lesão perfazendo um total de 4 mL infiltrados no total. A ferração aplicada neste caso, nos dois MA, foi a mesma, descrita anteriormente no caso 1 e 4, pelas mesmas razões. O protocolo de reabilitação foi o anteriormente descrito e apesar de ter tido algumas melhorias ecográficas e também algumas melhorias ao nível do grau de claudicação, este equino foi retirado do desporto devido à cronicidade inerente à lesão.

O caso clínico 6 é referente a um equino de obstáculos 1.10m com lesão no corpo do LSB, sendo que segundo Dyson, Arthur, Palmer e Richardson (1995) e Colbourne e Yovich (1994) a desmíte do corpo do LSB é uma lesão principalmente de equinos de corridas. A desmíte do corpo do LSB são menos frequentes, exceto se associado com exostose do metacarpo II ou IV ou como sequela de lesão do ramo. Esta lesão ocorre nos membros anteriores e posteriores (Dyson et al., 1995; Colbourne & Yovich, 1994), sendo que neste caso o membro afetado é o MAD. Este equino apresentava ligeiro inchaço no MAD na região correspondente ao corpo do LSB, bem como dor à palpação dessa tumefação, no entanto segundo Dyson e Genovese (2011) a dor à palpação do LSB não é sinónimo de dano na estrutura. Segundo os mesmos autores, os sinais clínicos associados a esta afeção são: aumento localizado da temperatura, edema periligamentar, inchaço severo dos tecidos moles periligamentares que pode tornar a palpação cuidadosa do LSB difícil, arredondamento das margens do LSB, aumento do corpo do LSB, dor à palpação das margens do LSB, rigidez anormal do LSB, dor à palpação do terço distal do metacarpo II ou IV no caso de existir fratura, claudicação, no entanto a ausência desta não impede que haja desmíte clinicamente significativa e hiperextensão da articulação do boleto. Também apresentava efusão da articulação metacarpofalângica do MAD possivelmente relacionada com história de osteoartrite nesta articulação. Segundo Dyson e Genovese (2011) existe frequentemente fraca correlação entre a extensão da lesão e o grau de claudicação. No entanto, o desempenho desportivo pode estar comprometido apesar

da falta de evidência de claudicação e neste caso o grau de claudicação era de 1/5 do MAD a trote para a mão esquerda no piso duro e 2/5 do MAD a trote para a mão esquerda no piso mole passando para 3/5 após palpação da zona tumefacta e posterior andamento. Foi negativo ao teste da pinça de cascos e à flexão da articulação metacarpofalângica. Apesar de, segundo Dyson e Genovese (2011), as analgesias diagnosticas raramente serem necessárias, a não ser que haja suspeita de outra causa de claudicação ou de recorrência de desmite, foram realizadas e foi negativo ao bloqueio do nervo digital palmar, ao bloqueio abaxial e ao bloqueio da articulação metacarpofalângica, realizado devido à história de osteoartrite nessa articulação. Segundo Dyson e Genovese (2011), a analgesia perineural dos nervos metacárpicos palmares proximais no sítio de suspeita da lesão deve eliminar a claudicação associada. Segundo Dyson e Genovese (2011), ecograficamente este tipo de lesão tem as seguintes características ecográficas: aumento do corpo do ligamento no plano transversal e mediano, perda de definição de uma ou mais margens do ligamento, áreas focais hipocogênicas, à periferia ou centrais, estendendo-se a uma distância variável proximodistalmente, redução difusa na ecogenicidade de alguns ou todos os CSA do ligamento e por último, equinos com desmites crônicas as áreas hiperecogênicas focais correspondem a fibrose e mineralização. Neste caso o LSB estava aumentado na zona do corpo, apresentava, dorsalmente, uma zona focal hipocogênica à periferia da estrutura, bem como perda de definição das margens do LSB e em relação à ecogenicidade ocorreu uma redução difusa da mesma. Segundo Dyson e Genovese (2011) o corpo do LSB de equinos saudáveis não tem sempre ecogenicidade uniforme, uma vez que as quantidades de tecido muscular no ligamento são variáveis e existe variação do nível de bifurcação do LSB entre equinos. Segundo Dyson, Weekes e Murray (2007), posteriormente a uma desmite do corpo do LSB, a taxa de reincidência é alta no corpo do LSB do mesmo membro ou no membro contralateral ou no ramo do mesmo membro ou do membro contralateral. Foram infiltrados 4 mL de PRP na lesão, tendo sido feito um estudo *in vitro* por Schnabel, Mohammed, Jacobson e Fortier (2008) que comparou o potencial de vários produtos biológicos com base no sangue, com o objetivo de regenerar o LSB e esse estudo concluiu que o aspirado de medula óssea foi potencialmente superior ao PRP. Além disso, segundo Waselau, Sutter, Genovese e Bertone (2008), 9 de 9 equinos de corrida, tratados com administração intralesional de PRP regressaram às corridas, com um desempenho desportivo semelhante aos equinos do grupo de controlo durante dois anos após o tratamento. A ferração ortopédica aplicada nos dois MA deste equino foi a mesma do caso clínico 1, 4 e 5 pelas mesmas razões. O protocolo de reabilitação foi o anteriormente referido e na última ecografia foi possível verificar que em

certos níveis houve alguma redução do CSA (representado pela medida M1), não havendo grandes melhorias da ecogenicidade, á qual corresponde a medida M4 e M5, no entanto como já foi referido equinos saudáveis na zona do corpo do LSB não tem sempre ecogenicidade uniforme, a zona hipoecogénica continuava presente e a perda de definição das margens ainda era notável. Com o decorrer da regressão da lesão do corpo do LSB, as medidas que melhor exprimiram esta involução foram, por um lado, M2 e M3, associado a M6 e por outro lado, a medida M7. Apenas neste caso clinico, se verificou uma diminuição do ângulo entre as fibras, assinalado por M8, como potencial parâmetro na identificação de regressão da lesão do ligamento/ tendão. Á semelhança das conclusões do caso clinico previamente descrito, também aqui foram as medidas M1 e M6, as medidas que mostraram ter menor coeficiente de variação. Passados 5 meses do diagnóstico da lesão o equino voltou ao trabalho sem restrições.

Por último, no caso clinico 9, foi diagnosticado uma tendinite no TFDS do MAE e segundo Ely et al. (2004) e Ely et al. (2009), o TFDS do membro anterior é muito mais propenso de ser lesionado do que qualquer outra estrutura tendinosa nos membros dos equinos, sendo que cerca de 90% das lesões ao nível dos tendões em cavalos de corrida são ao nível deste tendão e segundo Lam et al. (2007) mais de 97% ocorre nos membros anteriores e 8.6% são lesões bilaterais (Lam et al., 2007). Este equino é de obstáculos 1.10m apesar de estar descrito por Rooney e Genovese (1981) e por Genovese (2001) que esta lesão é invulgar em equinos de obstáculos, exceto naqueles que competem a nível internacional e também foi descrito por Dyson (2011b) que pode ocorrer em equinos com aproximadamente 15 anos, que é o caso deste equino, ou mais velhos. Ao exame físico apresentou tumefação da zona palmar da canela, bem como dor à palpação dessa mesma zona estando descrito por Smith (2008b) que em casos muito subtis, muitas vezes o único sinal pode ser o aumento e/ou alteração da forma do tendão, podendo ser acompanhado por um edema peritendinoso, o qual não é específico para tendinites e pode também resultar de trauma local. Segundo Dyson (2011b) pode ocorrer um início insidioso de inchaço peritendinoso e aumento do TFDS sem claudicação associada, como ocorreu neste caso clinico em que ao exame dinâmico não apresentava qualquer claudicação. Segundo Ross et al. (2011), o exame ecográfico é essencial para confirmar os sinais clínicos presentes e avaliar a extensão da lesão no TFDS. Neste caso clinico durante a avaliação ecográfica foi possível verificar um aumento da estrutura, assim como visualizar uma core lesion que segundo Smith (2008b) é um sinal comum de lesão aguda do TFDS, no entanto esse mesmo autor refere que normalmente está centrada na região média do

metacarpo e neste caso clínico encontra-se mais proximal. Segundo Smith (2008b) as lesões podem também ter uma localização excêntrica nos bordos do tendão (medialmente, lateralmente, dorsalmente ou palmarmente). Segundo Genovese et al. (1996), um aumento do CSA do tendão está descrito como o indicador mais sensível do dano das fibras. Smith e Heinegard (2000) acreditam que um bom alinhamento das fibras após cicatrização é o que está mais correlacionado com um resultado bem-sucedido. Foram infiltrados 4 mL de PRP no sítio da lesão e segundo Schnabel et al. (2007) uma porção do tendão flexor digital superficial (TFDS) de equino cultivado em PRP demonstrou um aumento da expressão genética de colagénio tipo I, colagénio tipo III e proteína da matriz oligomérica da cartilagem (COMP) sem aumento concomitante de moléculas catabólicas MMP-3 e MMP-13 (Schnabel et al., 2007). A ferração ortopédica aplicada nos dois MA foram ferraduras com os ramos curtos de um arpão que permitem que haja um maior afundamento dos talões e conseqüentemente uma maior elevação do boleto, permitindo que não haja grande estiramento do TFDS. Segundo Richter (2017), dados recentes revelaram que a elevação dos talões pode ser prejudicial, aumentando a tensão máxima do TFDS e do LSB durante a extensão do boleto e por outro lado, a elevação da pinça reduz dinamicamente a tensão nestas duas estruturas podendo assim proteger. As ferraduras que reproduzam biomecanicamente este efeito benéfico podem ser usadas durante o tratamento e fase de reabilitação em equinos com desmíte do corpo do LSB e tendinites do TFDS. O protocolo aplicado foi o anteriormente referido e na última ecografia realizada foi possível verificar que o CSA da lesão diminuiu, ao qual corresponde indiretamente a medida M3, que comprovou, mais uma vez, estar associada á uma involução da lesão, neste caso do TFSD, assim com o CSA da estrutura, assinalado através da medida M1 e o comprimento da lesão, o parâmetro M7. Em termos de avaliação da repetibilidade, as medidas M1, M2 e M6, comparado com as restantes medidas, foram aquelas que apresentaram um menor coeficiente de variação. Até á data, este equino continua em fase de recuperação.

4. Conclusão

A ecografia é um meio de diagnóstico essencial no caso de lesões músculo-esqueléticas, apesar de haver outros meios que permitam detetar lesões que a ecografia não consegue, este meio de diagnóstico é mais barato, estando assim mais facilmente ao alcance, em termos económicos, dos proprietários. No entanto é necessário recorrer a outros métodos, como as analgesias diagnósticas, assim como aos sinais clínicos para obter um diagnóstico definitivo. O conhecimento da anatomia, bem como das características ultrassonográficas das lesões e sinais clínicos associados às mesmas, é de elevada importância e aquando do exame ecográfico do membro lesado, é importante observar também o membro contralateral para comparar o tamanho das estruturas, bem como a sua composição.

É necessário fazer um diagnóstico precoce, pois quanto mais tardio for, pior será o prognóstico para o equino em causa, em termos de regresso ao nível de trabalho anterior à lesão.

Com base nos casos acima descritos e de acordo com a bibliografia, o tempo de recuperação é variável dependendo de fatores como a estrutura em causa, a idade do equino e a severidade da lesão. O protocolo de reabilitação é de elevada importância, pois tem influência na qualidade do tecido de cicatrização e é necessário que os proprietários/tratadores dos equinos estejam cientes disso, pois são eles que têm de o seguir minuciosamente, sendo também de elevada importância transmitir, que um equino que deixe de claudicar não significa que está recuperado e pode voltar ao trabalho, pois a claudicação deve estar ausente após um período de repouso e muito antes da cura considerável do tendão. A razão das medidas terem uma grande variabilidade pode ser devido a variadas razões, desde limitações anatómicas a fatores relacionados com a prática ecográfica. Acreditamos que a lista de todas estas razões, a qual está longe de estar completa, e na maioria não foi controlado, terá sido um importante fator nos resultados deste trabalho. Nomeadamente na identificação das medidas ultrassonográficas. À semelhança do que ocorre em estudos retrospectivos, a falta do seguimento e prática de um protocolo estável, dá azo a resultados menos consistentes.

Em relação às medições ecográficas no diagnóstico e controlo das lesões, as medições feitas no plano longitudinal são mais precisas apesar de isso não se ter verificado nos casos clínicos acompanhados. No entanto, a grande vantagem deste estudo está associada ao seu carácter prático realizado em condições de terreno, tão importante na realidade da medicina veterinária de Equinos. Pôde-se no entanto concluir deste trabalho que, por ordem de importância, as

medidas M7 e M3, seguindo-se M6, e por último M1, M2, M4 e M5, foram as eleitas em resposta ao primeiro objectivo do presente trabalho. No que respeita ao segundo objectivo, também aqui apresentados por ordem decrescente, as medidas elegidas foram, de longe M1, seguido das medidas M6 e M2.

À exceção do cavalo 4, por opção do cavaleiro, e do cavalo 5, todos os equinos regressaram ao nível de trabalho anterior à lesão num período de tempo inferior ao tempo estimado para o animal ficar curado. Concluindo assim, que o PRP e o protocolo de reabilitação implementado estão associados e são de elevada importância.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Abramovitch, R., Neeman, M., Reich, R., Stein, I., Keshet, E., Abraham, J., . . . Marikovsky, M. (1998). Intercellular communication between vascular smooth muscle and endothelial cells mediated by heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and vascular endothelial growth factor. *FEBS letters*, 425(3), 441-447.
- Albrechtsen, S. J., & Harvey, J. S. (1982). Dimethyl sulfoxide: Biomechanical effects on tendons. *The American journal of sports medicine*, 10(3), 177-179.
- Alexander, G. R., Gibson, K. T., Day, R. E., & Robertson, I. D. (2001). Effects of superior check desmotomy on flexor tendon and suspensory ligament strain in equine cadaver limbs. *Veterinary Surgery*, 30(6), 522-527.
- Alsousou, J., Thompson, M., Hulley, P., Noble, A., & Willett, K. (2009). The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: a review of the literature. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 91(8), 987-996.
- Amable, P. R., Carias, R. B., Teixeira, M. V., Pacheco, Í. C., Amaral, R. J., Granjeiro, J. M., & Borojevic, R. (2013). Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Research & Therapy*, 4(3), 67.
- Amin, T. M., & Sirs, J. A. (1985). The blood rheology of man and various animal species. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 70(1), 37-49.
- Anitua, E. (1999). Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 14(4), 529-535.
- Anitua, E., Andia, I., Ardanza, B., Nurden, P., & Nurden, A. T. (2004). Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and haemostasis-stuttgart*, 91(1), 4-15.
- Argüelles, D., Carmona, J. U., Pastor, J., Iborra, A., Viñals, L., Martínez, P., . . . Prades, M. (2006). Evaluation of single and double centrifugation tube methods for concentrating equine platelets. *Research in Veterinary Science*, 81(2), 237-245.
- Baird, A., & Klagsbrun, M. (1991). The fibroblast growth factor family an overview. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 638(1).
- Batson, E. L., Paramour, R. J., Smith, T. J., Birch, H. L., Patterson-Kane, J. C., & Goodship, A. E. (2003). Are the material properties and matrix composition of equine flexor and extensor tendons determined by their functions? *Equine Veterinary Journal*, 35(3), 314-318.
- Beerts, C., Seifert, C., Zimmerman, M., Felix, E., Suls, M., Mariën, T., . . . Spaas, J. H. (2013). Desmitis of the accessory ligament of the equine deep digital flexor tendon: a regenerative approach. *Journal Tissue Science & Engineering*, 4(1), 1-7.

- Bennet , N. T., & Schultz, G. S. (1993b). Growth factors and wound healing: Part II. Role in normal and chronic wound healing. *American Journal of Surgery*, 166, 74-81. Obtido em 11 de Março de 2017
- Bennet, N. T., & Schultz, G. S. (1993a). Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *American Journal of Surgery*, 165(6), 728-737.
- Beredjikian, P. K. (2003). Biologic aspects of flexor tendon laceration and repair. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 85A(3), 539-550.
- Berghoff, W., Pietrzak, W., & Rhodes, R. (2006). Platelet-rich plasma application during closure following total knee arthroplasty. *Orthopedics*, 29(7), 590-598.
- Bertone, A. L. (1989). Management of exuberant granulation tissue. *Veterinary clinics of North America. Equine Practice*, 5(3), 551-562.
- Birch , H. L., Thorpe, C. T., & Rumian, A. P. (2013). Specialisation of extracellular matrix for function in tendons and ligaments. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*, 3(1), 12-22.
- Birch, H. L. (1993). *An investigation into the cellular basis of tendon degeneration. Ph.D. Thesis*. Bristol: University of Bristol.
- Birch, H. L., Bailey, A. J., & Goodship, A. E. (1998). Macroscopic 'degeneration' of equine superficial digital flexor tendon is accompanied by a change in extracellular matrix composition. *Equine Veterinary Journal*, 30(6), 534-539.
- Birch, H. L., Bailey, J. V., Bailey, A. J., & Goodship, A. E. (1999). Age-related changes to the molecular and cellular components of equine flexor tendons. *Equine Veterinary Journal*, 31(5), 391-396.
- Bosch, G., van Schie, H. T., de Groot, M. W., Cadby, J. A., van de Lest, C. H., Barneveld, A., & van Weeren, P. R. (2010). Effects of platelet-rich plasma on the quality of repair of mechanically induced core lesions in equine superficial digital flexor tendons: a placebo-controlled experimental study. *Journal of Orthopaedic Research*, 28(2), 211-217.
- Bosch, G., van Weeren, P. R., Barneveld, A. B., & van Schie, H. T. (2011). Computerised analysis of standardised ultrasonographic images to monitor the repair of surgically created core lesions in equine superficial digital flexor tendons following treatment with intratendinous platelet rich plasma or placebo. *The Veterinary Journal*, 187(1), 92-98.
- Boswell, J. C., & Schramme, M. C. (2000). Desmitis of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon in the hindlimb in a horse. *Equine Veterinary Education*, 12(3), 129-132.
- Boswell, S. G., Schnabel, L. V., Mohammed, H. O., Sundman, E. A., Minas, T., & Fortier, L. A. (2014). Increasing platelet concentrations in leukocyte-reduced platelet-rich plasma decrease collagen gene synthesis in tendons. *The American Journal of Sports Medicine*, 42(1), 42-49.

- Bradshaw, R. A., & Cavanaugh, K. P. (1990). Isolation and characterization of growth factors. Em M. B. Sporn, & A. B. Roberts, *Peptide Growth Factors and Their Receptors* (pp. 17-65). Berlin: Springer-Verlag.
- Breitbart, A. S., Grande, D. A., & Laser, J. e. (2001). Treatment of ischemic wounds using cultured dermal fibroblasts transduced retrovirally with PDGF-B and VEGF 121 genes. *Ann Plast Surg*, 555-561.
- Brockus, C. W., & Andreasen, C. B. (2003). *Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: clinical pathology* (4th ed.). USA: K.S Latimer.
- Brokken, M. T., Schneider, R. K., Sampson, S. N., Tucker, R. L., Gavin, P. R., & Ho, C. P. (2007). Magnetic resonance imaging features of proximal metacarpal and metatarsal injuries in the horse. *Veterinary radiology & ultrasound*, 48(6), 507-517.
- Buchner, H. H. (2013). Gait adaptation in lameness. Em W. Back, H. Clayton, & editors, *Equine locomotion. 2nd ed.* (pp. 175-197). Saunders Elsevier, London.
- Buchner, H. H., Savelberg, H. H., Schamhardt, H. C., & Barneveld, A. (1996). Head and trunk movement adaptations in horses with experimentally induced fore-or hindlimb lameness. *Equine Veterinary Journal*, 28(1), 71-76.
- Burling, K., Seguin, M. A., Marsh, P., Brinkman , K., Madigan, J., Thurmond, M., . . . Murphy, C. J. (2000). Effect of topical administration of epidermal growth factor on healing of corneal epithelial defects in horses. *American journal of veterinary research*, 61(9), 1150-1155.
- Butler, D. L., Grood, E. S., Noyes, F. R., & Zernicke, R. F. (1978). Biomechanics of ligaments and tendons. *Exercise and sport sciences reviews*, 6(1), 125-181.
- Caminoto, E. H., Alves, A. L., Amorim, R. L., Thomassian, A., Hussni, C. A., & Nicoletti, J. L. (2005). Ultrastructural and immunocytochemical evaluation of the effects of extracorporeal shock wave treatment in the hind limbs of horses with experimentally induced suspensory ligament desmitis. *American Journal of Veterinary Research*, 66(5), 892-896.
- Caplan, A. I. (2005). Review: mesenchymal stem cells: cell-based reconstructive therapy in orthopedics. *Tissue Engineering*, 11(7-8), 1198-11211.
- Carroll, R. J., Arnoczky, S. P., Graham, S., & O'Connell, S. M. (2005). Characterization of Autologous Growth Factors. Cascade®Platelet-Rich Fibrin Matrix (PRFM). *Edison, New Jersey: Musculoskeletal Transplant Foundation*.
- Castelijns, G., Crawford, A., Schaffer, J., Ortolano, G. A., Beauregard, T., & Smith, R. K. (2011). Evaluation of a filter-prepared platelet concentrate for the treatment of suspensory branch injuries in horses. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 24(5), 363-369.
- Clayton, H. M. (2016). Horse species symposium: biomechanics of the exercising horse. *Journal of Animal Science*, 94(10), 4076-4086.
- Cohen, S., Leshanski, L., & Itskovitz-Eldor, J. (2006). Tissue engineering using human embryonic stem cells. *Methods in Enzymology*, 420, 303-315.

- Colbourne, C. M., & Yovich, J. V. (1994). Suspensory ligament injuries in racing horses: ultrasonographic diagnosis and long-term follow-up. *Aust Equine Vet*, 12, 119.
- Coleman, S. (2016). *The power of a good pair of shoes: supportive solutions for soft tissue injuries*. Obtido de Paulick report: <https://www.paulickreport.com/horse-care-category/hoof-care-category/standing-head-strategic-shoeing-the-power-of-a-good-pair-of-shoes-supportive-solutions-for-soft-tissue-injuries/>
- Conceição, M. L., Alvarenga, M. L., Souza, J. B., Mattos, L. H., Rodrigues, C. A., Watanabe, M. J., Hussni, C. A., & Alves, A. L. (2017). Plasma rico em plaquetas: estudo comparativo entre a dupla centrifugação e o filtro E-PET (Equine Platelet Enhancement Therapy). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(3), 215-220.
- Cook, J. L. (2013). Use of Platelet Rich Plasma (PRP) in small animal orthopedic practice. *Proceedings of the Southern European Veterinary Conference: Barcelona, Spain, 17-19 October*.
- Coudry, V., Denoix, J. M., Didierlaurent, D., Rossignol, F., & Audigié, F. (2008). Use of magnetic resonance imaging to diagnose the cause of proximal metacarpal pain in a standardbred trotter. *Vet. Rec*, 162, 790-792.
- Curwin, S. L., & Stanish, W. D. (1984). *Tendinitis: its etiology and treatment*. Lexington, USA: Collamore Press.
- Dahlgren, L. A. (2007). Pathobiology of tendon and ligament injuries. *Clinical techniques in equine practice*, 6(3), 168-173.
- Dahlgren, L. A., Brower-Toland, B. D., & Nixon, A. J. (2005a). Cloning and expression of type III collagen in normal and injured tendons of horses. *American Journal of Veterinary Research*, 66(2), 266-270.
- Dahlgren, L. A., Mohammed, H. O., & Nixon, A. J. (2005b). Temporal expression of growth factors and matrix molecules in healing tendon lesions. *Journal of Orthopaedic Research*, 23(1), 84-92.
- Dahlgren, L. A., van der Meulen, M. C., Bertram, J. E., Starrak, G. S., & Nixon, A. J. (2002). Insulin-like growth factor-I improves cellular and molecular aspects of healing in a collagenase-induced model of flexor tendinitis. *Journal of Orthopaedic Research*, 20(5), 910-919.
- Danielson, A. J., & Maihle, N. J. (2002). The EGF/ErbB receptor family and apoptosis. *Growth factors*, 20(1), 1-15.
- Davidson, J. M., & Benn, S. I. (1996). Regulation of angiogenesis and wound repair. Interactive role of the matrix and growth factors. *Cellular and Molecular Pathogenesis*. Lippicott-Raven Publishers: Philadelphia, 5, 79-105.
- Davis, C. S., Ely, E. R., Verheyen, K. L., Price, J. S., Wood, J. L., & Smith, R. K. (2006). The value of ultrasonography in monitoring tendon health in racehorses in training. *13th ESVOT Congress held at Munich on 7th-10th September*.

- de Mos, M., van der Windt, A. E., Jahr, H., van Schie, H. T., Weinans, H., Verhaar, J. A., & van Osch, G. J. (2008). Can platelet-rich plasma enhance tendon repair? A cell culture study. *Am J Sports Med*, 36(6), 1171-1178.
- Denoix, J. M. (1996). Ultrasonographic examination in the diagnosis of joint disease. Em C. W. McIlwraith, & G. W. Trotter, *Joint disease in the horse* . Philadelphia: WB Saunders.
- Denoix, J. M., & Pailloux, J. P. (2001). *Physical therapy and massage for the horse*. (2nd ed.). North Pomfret (VT): Travalgar Square Publishing.
- Denoix, J. M., Coudry, V., & Jacquet, S. (2008). Ultrasonographic procedure for a complete examination of the proximal third interosseous muscle (proximal suspensory ligament) in the equine forelimbs. *Equine Veterinary Education*, 20(3), 148-153.
- Denoix, J. M., Jacot, S., Bousseau, B., & Perrot, P. (1996). Ultrasonographic anatomy of the dorsal and abaxial aspects of the equine fetlock. *Equine Veterinary Journal*, 28(1), 54-62.
- Diamant, J., Keller, A., Baer, E., Litt, M., & Arridge, R. G. (1972). Collagen; ultrastructure and its relation to mechanical properties as a function of ageing. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 180(1060), 293-315.
- DiGiovanni, D. L., Rademacher, N., Riggs, L. M., Baumruck, R. A., & Gaschen, L. (2016). Dynamic sonography of the equine metacarpo (tarso) phalangeal digital flexor tendon sheath. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 57(6), 621-629.
- Donnelly, B. P., Nixon, A. J., Haupt, J. L., & Dahlgren, L. A. (2006). Nucleotide structure of equine platelet derived growth factor-a and b and expression in horses with induced acute tendinitis. *American Journal of Veterinary Research*, 67(7), 1218-1225.
- Dowling, B. A., Dart, A. J., Hodgson, D. R., & Smith, R. K. (2000). Superficial digital flexor tendonitis in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 32(5), 369-378.
- Draper, D. O., Castel, J. C., & Castel, D. (1995). Rate of temperature increase in human muscle during 1 MHz and 3 MHz continuous ultrasound. *The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, 22(4), 142-150.
- Dyson, S. J., Weekes, J. S., & Murray, R. C. (2007). Scintigraphic evaluation of the proximal metacarpal and metatarsal regions of horses with proximal suspensory desmitis. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 48(1), 78-85.
- Dyson, M. (1997a). Advances in wound healing physiology: the comparative perspective. *Veterinary Dermatology*, 8(4), 227-233.
- Dyson, S. (1991). Proximal suspensory desmitis: clinical, ultrasonographic and radiographic features. *Equine veterinary journal*, 23(1), 25-31.
- Dyson, S. (1997b). Treatment of superficial digital flexor tendinitis: a comparison of conservative management, sodium hyaluronate, and glycosaminoglycan polysulfate. *Proceedings*, pp. 297-300.

- Dyson, S. (2003). Desmitis of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon. Em M. Ross, & S. Dyson, *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* (pp. 650-653). St.Louis: Saunders.
- Dyson, S. (2007). Diagnosis and management of common suspensory lesions in the forelimbs and hindlimbs of sport horses. *Clinical techniques in equine practice*, 6(3), 179-188.
- Dyson, S. (2010). Desmitis of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon. Em M. Ross, & S. Dyson, *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse (2nd ed.)* (pp. 734-738). St.Louis: Elsevier.
- Dyson, S. (2012). Proximal injuries of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon in forelimbs and hindlimbs:12 horses (2006-2010). *Equine Veterinary Education*, 24(3), 134-142.
- Dyson, S. J. (2003a). Proximal metacarpal and metatarsal pain: a diagnostic challenge. *Equine Veterinary Education*, 15(3), 134-138.
- Dyson, S. J. (2004). Medical management of superficial digital flexor tendonitis: a comparative study in 219 horses (1992-2000). *Equine Veterinary Journal*, 36(5), 415-419.
- Dyson, S. J. (2011). Injuries of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon. Em M. W. Ross, & S. J. Dyson, *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* (pp. 734-738). St.Louis: Elsevier Saunders.
- Dyson, S. J. (2011b). Superficial digital flexor tendonitis. Em M. Ross, & S. Dyson, *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse (2nd ed.)* (pp. 706-726). St.Louis: Elsevier.
- Dyson, S. J., & Genovese, R. L. (2011). The suspensory apparatus. Em M. W. Ross, & S. J. Dyson, *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse (2nd ed.)* (pp. 738-760). St Louis: Elsevier Saunders.
- Dyson, S. J., & Genovese, R. L. (2011). The suspensory apparatus. Em M. W. Ross, & S. J. Dyson, *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* (pp. 738-760). St.Louis: Elsevier Saunders.
- Dyson, S. J., Arthur, R. M., Palmer, S. E., & Richardson, D. (1995). Suspensory ligament desmitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 11(2), 177-215.
- Dyson, S., & Murray, R. (2007). Magnetic resonance imaging evaluation of 264 horses with foot pain: the podotrochlear apparatus, deep digital flexor tendon and collateral ligaments of the distal interphalangeal joint. *Equine veterinary journal*, 39(4), 340-343.
- Dyson, S., & Murray, R. (2012). Management of hindlimb proximal suspensory desmopathy by nectomy of the deep branch of the lateral plantar nerve and plantar fasciotomy: 155 horses (2003-2008). *Equine veterinary journal*, 44(3), 361-367.
- Ehrenfest, D., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma to leucocyte- and platelet-rich fibrin. *Trends in biotechnology*, 27(3), 158-167.

- Eliashar , E., Dyson, S. J., Archer, R. M., Singer, E. R., & Smith, R. K. (2005). Two clinical manifestations of desmopathy of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon in the hindlimb of 23 horses. *Equine veterinary journal*, 37(6), 495-500.
- Ely , E. R., Avella, C. S., Price, J. S., Smith, R. K., Wood, J. L., & Verheyen, K. L. (2009). Descriptive epidemiology of fracture, tendon and suspensory ligament injuries in national hunt racehorses in training. *Equine Veterinary Journal*, 41(4), 372-378.
- Ely, E. R., Verheyen, K. L., & Wood, J. L. (2004). Fractures and tendon injuries in national hunt horses in training in the uk: a pilot study. *Equine Veterinary Journal*, 36(4), 365-367.
- Eppley, B. L., Woodell, J. E., & Higgins, J. (2004). Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*, 114(6), 1502-1508.
- Everts, P. A., Devilee, R. J., Brown Mahoney, C., van Erp, A., Oosterbos, C. J., Stellenboom, M., . . . van Zundert, A. (2008). Exogenous application of platelet-leukocyte gel during open subacromial decompression contributes to improved patient outcome. A prospective randomized double-blind study. *European Surgical Research*, 40(2), 203-210.
- Everts, P. A., Jakimowicz, J. J., van Beek, M., Schanberger, J. P., Devilee, R. J., Overdeest, E. P., . . . van Zundert, A. (2007). Reviewing the structural features of autologous platelet-leukocyte gel and suggestions for use in surgery. *European Surgical Research*, 39(4), 199-207.
- Fenwick, S. A., Hazleman, B. L., & Riley, G. P. (2002). The vasculature and its role in the damaged and healing tendon. *Arthritis Research & Therapy*, 4(4), 252-260.
- Ferrara, N. (1999). Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *Journal of molecular medicine*, 77(7), 527-543.
- Fioravanti, C., Frustaci, I., Armellini, E., Condò, R., Arcuri, C., & Cerroni, L. (2015). Autologous blood preparations rich in platelets, fibrin and growth factors. *Oral & Implantology*, 8(4), 96-113.
- Flynn, J. E., & Graham, J. H. (1965). Healing of tendon wounds. *The American Journal of Surgery*, 109(3), 315-324.
- Fortier, L. A. (2009). Medical therapies for tendonitis. *Proceedings of the 11th International Congress of the World Equine Veterinary Association*. Guarujá, Brazil , 24-27 September.
- Fortier, L. A., & Smith, R. K. (2008). Regenerative medicine for tendinous and ligamentous injuries of sport horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 24(1), 191-201.
- Foster, T. E., Puskas, B. L., Mandelbaum, B. R., Gerhardt, M. B., & Rodeo, S. A. (2009). Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications. *The American Journal of Sports Medicine*, 37(11), 2259-2272.

- Furlow, L. T. (1976). The role of tendon tissues in tendon healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 57(1), 39-49.
- Gardner, M. J., Demetrakopoulos, D., Klepchick, P., & Mooar, P. (2007). The efficacy of autologous platelet gel in pain control and blood loss in TKR: an analysis of the haemoglobin, narcotic requirement and range of motion. *International Orthopaedics*, 31(3), 309-313.
- Genovese, R. (2001). Unpublished data.
- Genovese, R. L., & Jorgensen, J. S. (2002). Unpublished data.
- Genovese, R. L., & Rantanen, N. W. (1998). The superficial digital flexor tendon and the deep digital flexor tendon, carpal sheath, accessory ligament of the deep digital flexor tendon (inferior check ligament). Em N. W. Rantanen, & A. O. McKinnon, *Equine diagnostic ultrasonography*. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Genovese, R. L., Reef, V. B., Longo, K. L., Byrd, J. W., & Davis, W. M. (1996). Superficial digital flexor tendonitis long term sonographic and clinical study of racehorses. Em N. W. Rantanen, & M. L. Hauser, *Proceedings of the Dubai Equine International Symposium* (pp. 187-205).
- Gerwins, P., Skoldenberg, E., & Claesson-Welsh, L. (2000). Function of fibroblast growth factors and vascular endothelial growth factors and their receptors in angiogenesis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 34(3), 185-194.
- Gift, L. J., Gaughan, E. M., & DeBowes, R. M. (1992). The influence of intratendinous sodium hyaluronate on tendon healing in horses. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 5, 151.
- Gillis, C. (2004). Soft tissue injuries: tendonitis and desmitis. Em K. W. Hinchcliff, A. J. Kaneps, & R. J. Geor, *Equine Sports Medicine and Surgery* (pp. 411-433). St.Louis, MO: Saunders Elsevier.
- Gillis, C. (2007). Ultrasonography for monitoring healing and rehabilitation. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 6(3), 174-178.
- Gillis, C. L. (1997a). Rehabilitation of tendon and ligament injuries. *Proceedings American Association of Equine Practitioners*, 43, 306-309.
- Goodship, A. E. (1993). The pathophysiology of flexor tendon injury in the horse. *Equine Veterinary Education*, 5(1), 23-29.
- Goodship, A. E., Birch, H. L., & Wilson, A. M. (1994). The pathobiology and repair of tendon and ligament injury. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 10(2), 323-349.
- Gosens, T., Peerbooms, J. C., van Laar, W., & den Oudsten, B. L. (2011). Ongoing positive effect of platelet-rich plasma versus corticosteroid injection in lateral epicondylitis: a double-blind randomized controlled trial with 2-year follow-up. *The American Journal of Sports Medicine*, 39(6), 1200-1208.
- Grondin, T. M., & Dewitt, S. F. (2010). *Normal hematology of the horse and donkey: Schalm's Veterinary Hematology (6th ed.)*. USA: D.J. Weiss and K.J Wardrop.

- Harris, R. A., Follet, D. H., Halliwell, M., & Wells, P. N. (1991). Ultimate limits in ultrasonomic imaging resolution. *Ultrasound in medicine & biology*, 17(6), 547-558.
- Hayem, G. (2001). Tenology: a new frontier. *Joint, Bone, Spine: Revue du Rhumatisme*, 68(1), 19-25.
- Hayes, K. W., & Hall, K. D. (Ed.). (2012). *Manual for physical agents*. (6th ed.). Boston (MA): Pearson.
- Herndon, D. N., Hayward, P. G., Rutan, R. L., & Barrow, R. E. (1992). Growth hormones and factors in surgical patients. *Advances in surgery*, 25, 65-97.
- Herndon, D. N., Nguyen, T. T., & Gilpin, D. A. (1993). Growth factors. Local and systemic. *Archives of Surgery*, 128, 1227-1233.
- Hessel, L. N., Bosch, G., van Weeren, P. R., & Ionita, J. C. (2015). Equine autologous platelet concentrates: a comparative study between different available systems. *Equine Veterinary Journal*, 47(3), 319-325.
- Hewes, C. A., & White, N. A. (2006). Outcome of desmoplasty and fasciotomy for desmitis involving the origin of the suspensory ligament in horses: 27 cases (1995-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 229(3), 407-412.
- Hills, A. C. (1996). Comparative ultrasonic study of normal tendinous and ligamentous structures of the palmar metacarpus of standardbred and thoroughbred horses. *Proc Am Assoc Equine Pract*, 42, 272-275.
- Hobbs, S. J., & Clayton, H. M. (2013). Sagittal plane ground reaction forces, centre of pressure and centre of mass in trotting horses. *The Veterinary Journal*, 198, e14-e19.
- Hode, L., & Tunér, J. (2009). *Laser phototherapy: clinical practice and scientific background*. Grangesberg (Sweden): Prima Books.
- Hodgson, D. R., McKeever, K. H., & McGowan, C. M. (2013). *The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine* (2nd ed.). St Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences.
- Ingraham, J. M., Hauck, R. M., & Ehrlich, H. P. (2003). Is the tendon embryogenesis process resurrected during tendon healing? *Plastic and Reconstructive Surgery*, 112(3), 844-854.
- Inoue, M., Ono, I., Tateshita, T., Kuroyanagi, Y., & Shioya, N. (1998). Effect of a collagen matrix containing epidermal growth factor on wound contraction. *Wound Repair and Regeneration*, 6(3), 213-222.
- Jorgensen, A. J., Diaz, O. S., & Reef, V. B. (2008). Ultrasonographic diagnosis- demitis of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon in a hindlimb in a horse. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 49(3), 303-306.
- Kaneps, A. J. (2016). Practical rehabilitation and physical therapy for the general practitioner. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 32(1), 167-180.
- Kang, H. J., & Kang, E. S. (1999). Ideal concentration of growth factors in rabbit's flexor tendon culture. *Yonsei Medical Journal*, 40(1), 26-29.

- Kark, L., Karp, J., & Davies, J. (2006). Platelet releasate increases the proliferation and migration of bone marrow-derived cells cultured under osteogenic conditions. *Clin Oral Implants Res.*, 17, 321-327.
- Kasashima, Y., Eto, D., Kusano, K., & Hobo, S. (2001). Comparison of the method of cold therapy to equine limbs after training, with the aim of preventing tendinitis. *Journal of equine science*, 12(3), 96.
- Kasemkihwattana, C., Menetrey, J., Bosch, P., Somogyi, G., Moreland, M. S., Fu, F. H., . . . Huard, J. (2000). Use of growth factors to improve muscle healing after strain injury. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 370, 272-285.
- Keegan, K. G. (2007). Evidence-based lameness detection and quantification. *Veterinary Clinics of North America*, 23(2), 403-423.
- Khumsap, S., Lanovaz, J. L., Rosenstein, D. L., Byron, C., & Clayton, H. M. (2003). Effect of unilateral synovitis of distal intertarsal and tarsometatarsal joints on sagittal plane kinematics and kinetics of trotting horses. *American Journal of Veterinary Research*, 64(12), 1491-1495.
- Kirberger, R. M. (1995). Imaging artifacts in diagnostic ultrasound- a review. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 36(4), 297-306.
- Kisiday, J. D., McIlwraith, C. W., Rodkey, W. G., Frisbie, D. D., & Steadman, J. R. (2012). Effects of platelet-rich plasma composition on anabolic and catabolic activities in equine cartilage and meniscal explants. *Cartilage*, 3(3), 245-254.
- Kissich, C., Gottschalk, J., Lochmann, G., Einspanier, A., Böttcher, P., Winter, K., . . . Ionita, J. (2012). Biochemische Eigenschaften des equinen autologous conditioned plasma® (acp). *Pferdeheilkunde*, 28(3), 258-267.
- Kiuru, J., Viinikka, L., Myllylä, G., Pesonen, K., & Perheentupa, J. (1991). Cytoskeleton-dependent release of human. *Life Sci*, 49 (26), 1997-2003.
- Klinger, M., & Jelkmann, W. (2004). Role of blood platelets in Infection and Inflammation. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 22 (9), 913-922.
- Knottenbelt, D. C. (1997). Equine wound management: are there significant differences in healing at different sites on the body? *Veterinary Dermatology*, 8(4), 273-290.
- Labens, R., Schramme, M. C., Robertson, I. D., Thrall, D. E., & Redding, W. (2010). Clinical, magnetic resonance, and sonographic imaging findings in horses with proximal plantar metatarsal pain. *Veterinary radiology & ultrasound*, 51(1), 11-18.
- Lam, K. H., Parkin, T. D., Riggs, C. M., & Morgan, K. L. (2007). Descriptive analysis of retirement of thoroughbred racehorses due to tendon injuries at the hong kong jockey club (1992-2004). *Equine Veterinary Journal*, 39(2), 143-148.
- Lawrence, W. T., & Diegelman, R. F. (1994). Growth factors in wound healing. *Clinics in Dermatology*, 12(1), 157-169.
- Levine, D., & Millis, D. L. (2001). Effects of 3.3 MHz ultrasound on caudal thigh muscle temperature in dogs. *Veterinary Surgery*, 30(2), 170-174.

- Liu, Y., Kalén, A., Risto, O., & Wahlström, O. (2002). Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent. *Wound Repair Regen*, 10(5), 336-340.
- Loftus, M. L., Endo, Y., & Adler, R. S. (2012). Retrospective analysis of postinjections ultrasound imaging after platelet-rich plasma or autologous blood: observational review of anatomic distribution of injected material. *American Journal of Roentgenology*, 199(4), W501-W505.
- Los, G., De Weger, R. A., Van den Berg, D. T., Sakkers, R., & Den Otter, W. (1988). Macrophage infiltration in tumors and tumor-surrounding tissue: influence of serotonin and sensitized lymphocytes. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 26(2), 145-152.
- Lynch, S. E., de Castilla, G. R., Williams, R. C., Kiritsy, C. P., Howell, T. H., Reddy, M. S., & Antoniadis, H. N. (1991). The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *Journal of periodontology*, 62(7), 458-467.
- MacGregor, J., & Parkhouse, W. S. (1996). The potential role of insulin-like growth factors in skeletal muscle regeneration. *Canadian Journal of applied physiology*, 21(4), 236-250.
- Maia, L., de Souza, M. V., Ribeiro Júnior, J. I., de Oliveira, A. C., Alves, G. E., Benjamin, L., . . . Moreira, J. C. (2009). Platelet-rich plasma in the treatment of induced tendinopathy in horses: histologic evaluation. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29(8), 618-626.
- Manske, P. R., Gelberman, R. H., & Lesker, P. A. (1985). Flexor tendon healing. *Hand Clinics*, 1(1), 25-34.
- Maoudifard, M. (2008). Principles of ultrasonography of tendons and ligaments in the horse. *Principles of ultrasonography of tendons and ligaments in the horse*, (Supplement 2), 72-81.
- Marr, C. M., Love, S., Boyd, J. S., & McKellar, Q. (1993). Factors affecting the clinical outcome of injuries to the superficial digital flexor tendon in national hunt and point-to-point racehorses. *Veterinary Record*, 132(19), 476-470.
- Marr, C. M., McMillan, I., Boyd, J. S., Wright, N. G., & Murray, M. (1993). Ultrasonographic and histopathological findings in equine superficial digital flexor tendon injury. *Equine Veterinary Journal*, 25(1), 23-29.
- Marrelli, M., Falisi, G., Apicella, A., Apicella, D., Amantea, M., Cielo, A., . . . Tatullo, M. (2015). Behaviour of dental pulp stem cells on different types of innovative mesoporous and nanoporous silicon scaffolds with different functionalizations of the surfaces. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 29 (4), 991-997.
- Martineau, I., Lacoste, E., & Gagnon, G. (2004). Effects of calcium and thrombin on growth factor release from platelet concentrates: kinetics and regulation of endothelial cell proliferation. *Biomaterials*, 25, 4489-4502.

- Martinoli, C., Derchi, L. E., Pastorino, C., Bertolotto, M., & Silvestri, E. (1993). Analysis of echotexture of tendons with us. *Radiology*, 186(3), 839-843.
- Marx, R. E. (2001). Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*, 10(4), 225-228.
- Marx, R. E. (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62(4), 489-496.
- Marx, R. E., Carlson, E. R., Eichstaedt, R. M., Schimmele, S. R., Strauss, J. E., & Georgeff, K. R. (1998). Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 85(6), 638-646.
- Maurer, A. M., Zhou, B., & Han, Z. C. (2006). Roles of platelet factor 4 in hematopoiesis and angiogenesis. *Growth Factors*, 24(4), 242-252.
- May, S. A., & Lees, P. (1997). Non-steroidal anti-inflammatory drugs. Em C. W. McIlwraith, & G. W. Trotter, *Joint disease in the horse*. Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- McGowan, C., Goff, L., & Stubbs, N. (2007). *Animal physiotherapy: assessment, treatment and rehabilitation of animals*. Oxford (United Kingdom): Blackwell Publishing.
- Meehan, L., & Labens, R. (2016). Diagnosing desmitis of the origin of the suspensory ligament. *Equine Veterinary Education*, 28(6), 335-343.
- Menetrey, J., Kasemkijwattana, C., Day, C. S., Bosch, P., Vogt, M., Fu, F. H., . . . Huard, J. (2000). Growth factors improve muscle healing in vivo. *The bone & joint journal*, 82(1), 131-137.
- Minshall, G. J., & Wright, I. M. (2006). Arthroscopic diagnosis and treatment of intra-articular insertional injuries of the suspensory ligament branches in 18 horses. *Equine veterinary journal*, 38(1), 10-14.
- Mishra, A., & Pavelko, T. (2006). Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *The American Journal of Sports Medicine*, 34(11), 1774-1778.
- Mishra, A., Woodall, J., & Vieira, A. (2009). Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma. *Clinics in sports medicine*, 28(1), 113-125.
- Mitchell, R. D. (2006). Treatment of tendon and ligament injuries with ubm powder. *Proceedings of the Conference on Equine Sports Medicine and Science*, pp. 213-217.
- Molloy, T., Wang, Y., & Murrel, G. (2003). The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Medicine*, 33(5), 381-394.
- Montgomery, L., Elliott, S. B., & Adair, H. S. (2013). Muscle and tendon heating rates with therapeutic ultrasound in horses. *Veterinary Surgery*, 42(3), 243-249.
- Montgomery, R. D. (1989). Healing of muscle, ligaments, and tendons. *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)*, (Vol.4 No.4, pp. 304-311).

- Mosler, E., Folkhard, W., Knörzer, E., Nemetschek-Gansler, H., Nemetschek, T., & Koch, M. H. (1985). Stress-induced molecular rearrangement in tendon collagen. *Journal of molecular biology*, 182(4), 589-596.
- Murray, R. C., Dyson, S. J., Tranquille, C., & Adams, V. (2006). Association of type of sport and performance level with anatomical site of orthopaedic injury diagnosis. *Equine veterinary journal*, 38(S36), 411-416.
- Nagy, A., & Dyson, S. (2012). Magnetic resonance imaging findings in the carpus and proximal metacarpal region of 50 lame horses. *Equine veterinary journal*, 44(2), 163-168.
- Nguyen, R. T., Borg-Stein, J., & McInnis, K. (2011). Applications of platelet-rich plasma in musculoskeletal and sports medicine: an evidence-based approach. *Physical Medicine & Rehabilitation*, 3(3), 226-250.
- Nissen, N. N., & DiPietro, L. A. (2000). Angiogenic mediators in healing wounds. In: *Angiogenesis in Health and Disease*. G.M. Rubanyi, Dekker, M. (Eds.), 417-427.
- Nixon, A. J., Sams, A. E., & Ducharme, N. G. (1993). Endoscopically assisted anular ligament release in horses. *Veterinary Surgery*, 22(6), 501-507.
- Notarnicola, A., & Moretti, B. (2012). The biological effects of extracorporeal shockwave therapy (eswt) on tendon tissue. *Muscle Ligaments and Tendons Journal*, 2(1), 33-37.
- O'Meara, B., Bladon, B., Parkin, T. D., Fraser, B., & Lischer, C. J. (2010). An investigation of the relationship between race performance and superficial digital flexor tendonitis in the thoroughbred racehorse. *Equine Veterinary Journal*, 42(4), 322-326.
- Oreffo, R. O., Cooper, C., Mason, C., & Clements, M. (2005). Mesenchymal stem cells: lineage, plasticity, and skeletal therapeutic potential. *Stem Cell Reviews*, 1(2), 169-178.
- Padaliya, N. R., Ranpariya, J. J., Kumar, D., Javia, C. B., & Barvalia, D. R. (2015). Ultrasonographic assessment of the equine palmar tendons. *Veterinary World*, 8(2), 208-212.
- Park, G. Y., Kwon, D. R., Cho, H. K., Park, J., & Park, J. H. (2017). Distribution of platelet-rich plasma after ultrasound-guided injection for chronic elbow tendinopathies. *Journal of Sports Science and Medicine*, 16, 1-5.
- Parkes, R., Weller, R., Groth, A. M., May, S. A., & Pfau, T. (2009). Evidence of the development of 'domain-restricted' expertise in the recognition of asymmetric motion characteristics of hindlimb lameness in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 41(2), 112-117.
- Parratt, J. R., & West, G. B. (1957). Release of 5-hydroxytryptamine and histamine from tissues of the rat. *The Journal of physiology*, 137(2), 179-192.
- Peacock, E. (1965). Physiology of tendon repair. *The American Journal of Surgery*, 109, 283-286.

- Peerbooms, J. C., Sluimer, J., Bruijn, D. J., & Gosens, T. (2010). Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blind randomized controlled trial platelet-rich plasma versus corticosteroid injection with 1-year follow-up. *The American Journal of Sports Medicine*, 38(2), 255-262.
- Perez-Castro, A. V., & Vogel, K. G. (1999). In situ expression of collagen and proteoglycan genes during development of fibrocartilage in bovine deep flexor tendon. *Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society*, 17(1), 139-148.
- Petrov, R., MacDonald, M. H., Tesh, A. M., & Hoogmoed, L. M. (2003). Influence of topically applied cold treatment on core temperature and cell viability in equine superficial digital flexor tendons . *American journal of veterinary research*, 64(7), 835-844.
- Pienimäki, J. P., Rilla, K., Fulop, C., Sironen, R. K., Karvinen, S., Pasonen, S., . . . Tammi, M. I. (2001). Epidermal growth factor activates hyaluronan synthase 2 in epidermal keratinocytes and increases pericellular and intracellular hyaluronan. *The journal of biological chemistry*, 276(23), 20428-20435.
- Pinchbeck, G. L., Clegg, P. D., Proudman, C. J., Stirk, A., Morgan, K. L., & French, N. P. (2004). Horse injuries and racing practices in national hunt racehorses in the uk: the results of a prospective cohort study. *Veterinary Journal*, 167(1), 45-52.
- Pool, R. R., Wheat, J. D., & Ferraro , G. L. (1980). Corticosteroid therapy in common joint and tendon injuries of the horse. Part I and II: the effects on tendons. *Proceedings 26th Annual American Association of Equine Practitioners Convention* .
- Puchalski, S. M., Galuppo, L. D., Hornof, W. J., & Wisner, E. R. (2007). Intraarterial contrast-enhanced computed tomography of the equine distal extremity. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 48(1), 21-29.
- Radice, F., Yáñez, R., Gutiérrez, V., Rosales, J., Pinedo, M., & Coda, S. (2010). Comparison of magnetic resonance imaging findings in anterior cruciate ligament grafts with and without autologous platelet-derived growth factors. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 26(1), 50-57.
- Ramírez, J. U. (2006). Use of autologous platelet concentrates for the treatment of musculoskeletal injuries in the horse. *Thesis Submitted to University of Barcelona, Bellaterra*.
- Rantanen, N. W., Jorgensen, J. S., & Genovese, R. L. (2011). Ultrasonographic evaluation of the equine limb: technique. Em M. W. Ross, & S. J. Dyson, *Diagnosis and management of lameness in the horse* (pp. 182-205). USA: Elsevier Saunders.
- Rechler, M. M., & Nissley, S. P. (1990). Insulin-like growth factors. Em M. B. Sporn, & A. B. Roberts, *Peptide Growth Factors and Their Receptors* (pp. 263-367). Berlin: Springer-Verlag.
- Redding, W. R. (1994). Evaluation of the equine digital flexor tendon sheath using diagnostic ultrasound and contrast radiography. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 35(1), 42-48.

- Redding, W. R., Booth, L., & Pool, R. (1992). Effects of polysulfated glycosaminoglycans on the healing of collagenase induced tendonitis of the equine superficial digital flexor tendon. *Vet. Surg.*, 21(5), 403.
- Redmer, D. A., & Reynolds, L. P. (1996). Angiogenesis in the ovary. *Reviews of Reproduction*, 1(3), 182-192.
- Redmer, D. A., Doraiswamy, V., Bortnem, B. J., Fisher, K., Jablonka-Shariff, A., Grazul-Bilska, A. T., & Reynolds, L. P. (2001). Evidence for a role of capillary pericytes in vascular growth of the developing ovine corpus luteum. *Biology of reproduction*, 65(3), 879-889.
- Reef, V. B. (1998). Musculoskeletal ultrasonography. Em V. B. Reef, *Equine Diagnostic Ultrasound* (p. 61). Philadelphia: Saunders.
- Reef, V. B., Genovese, R. L., & Davis, W. M. (1997). Initial long term results of horses with superficial digital flexor tendonitis treated with intralesional beta-aminopropionitrile fumarate. *Proc. Am. Ass. Equine Pract.*, 43, 301-305.
- Reef, V., Sertich, P., & Turner, R. (1998). Musculoskeletal ultrasonography. Em V. Reef, *Equine Diagnostic Ultrasound* (pp. 39-187). Philadelphia: Saunders.
- Reynolds, L. P., & Redmer, D. A. (1998). Expression of the angiogenic factors, basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor, in the ovary. *Journal of animal science*, 76(6), 1671-1681.
- Reynolds, L. P., Killilea, S. D., & Redmer, D. A. (1992). Angiogenesis in the female reproductive system. *FASEB Journal*, 6(3), 886-892.
- Rhee, J. S., Black, M., Schubert, U., Fischer, S., Morgenstern, E., Hammes, H. P., & Preissner, K. T. (2004). The functional role of blood platelet components in angiogenesis. *Thrombosis and Haemostasis*, 92 (2), 394-402.
- Ricciardi, D. G. (2011). Use of platelet rich plasma in tendons' and ligaments' injuries in sport horses. *Thesis Submitted to University of Bologna*.
- Richter, R. A. (2017). *Veterian key*. Obtido de Therapeutic shoeing for tendon and ligament injury: <https://veteriankey.com/therapeutic-shoeing-for-tendon-and-ligament-injury/>
- Rindermann, G., Cislakova, M., Arndt, G., & Carstanjen, B. (2010). Autologous conditioned plasma as therapy of tendon and ligament lesions in seven horses. *Journal of Veterinary Science*, 11(2), 173-175.
- Robinson, C. J. (1994). Growth factors: therapeutic advances in wound healing. *Annals of Medicine*, 25(6), 535-538.
- Rooney, J. R., & Genovese, R. L. (1981). A survey and analysis of bowed tendon in thoroughbred racehorses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 1(2), 49-53.
- Ross, M., Genovese, R., Dyson, S., & Jorgensen, J. (2011). Superficial digital flexor tendonitis. Em M. Ross, & S. Dyson, *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse (2nd ed.)* (pp. 706-726). St.Louis: Elsevier.

- Rumian, A. P., Wallace, A. L., & Birch, H. L. (2007). Tendons and ligaments are anatomically distinct but overlap in molecular and morphological features: a comparative study in an ovine model. *Journal of Orthopaedic Research*, 25(4), 458-464.
- Sampson, S., Gerhardt, M., & Mandelbaum, B. (2008). Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. *Current reviews in Musculoskeletal Medicine*, 1(3-4), 165-174.
- Sasaki, N., Shukunami, N., Matsushima, N., & Izumi, Y. (1999). Time-resolved x-ray diffraction from tendon collagen during creep using synchrotron radiation. *Journal of biomechanics*, 32(3), 285-292.
- Schaffer, C. J., & Nanney, L. B. (1996). Cell biology of wound healing. *International review of cytology*, 169, 151-181.
- Schnabel, L. V., Mohammed, H. O., Jacobson, M. S., & Fortier, L. A. (2008). Effects of platelet rich plasma and acellular bone marrow on gene expression patterns and dna content of equine suspensory ligament explant cultures. *Equine veterinary journal*, 40(3), 260-265.
- Schnabel, L. V., Mohammed, H. O., Miller, B. J., McDermott, W. G., Jacobson, M. S., Santangelo, K. S., & Fortier, L. A. (2007). Platelet rich plasma (prp) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons. *Journal of Orthopaedic Research*, 25(2), 230-240.
- Schulze, T., & Budras, K. L. (2008). Zur klinisch-funktionellen anatomie des m. interosseus medius der hintergliedmabe im hinblick auf die insertionsdesmopathie des pferdes-kernspin-, computertomographische-und morphologische untersuchungen. *Pferdeheilkunde*, 24, 343-350.
- Scutt, N., Rolf, C. G., & Scutt, A. (2006). Glucocorticoids inhibit tenocyte proliferation and tendon progenitor cell recruitment. *Journal of orthopaedic research*, 24(2), 173-182.
- Servold, S. A. (1991). Growth factor impact on wound healing. *Clinics in podiatric medicine and surgery*, 8(4), 937-953.
- Sharif, P., & Abdollahi, M. (2010). The role of platelets in bone remodeling. *Inflammatory and allergy*, 9, 393-399.
- Sharma, P., & Maffulli, N. (2005). Basic biology of tendon injury and healing. *The Surgeon*, 3(5), 309-316.
- Shen, W., Li, Y., Tang, Y., Cummins, J., & Huard, J. (2005). NS-398, a cyclooxygenase-2-specific inhibitor, delays skeletal muscle healing by decreasing regeneration and promoting fibrosis. *American Journal Pathology*, 167(4), 1105-1117.
- Shoemaker, R. S., Bertone, A. L., Mohammad, L. N., & Arms, S. W. (1991). Desmotomy of the accessory ligament of the superficial digital flexor muscle in equine cadaver limbs. *Veterinary Surgery*, 20(4), 245-252.
- Shrier, I., Matheson, G. O., & Kohl III, H. W. (1996). Achilles tendonitis: are corticosteroid injections useful or harmful? *Clinical Journal of Sport Medicine*, 6(4), 245-250.

- Silver, I. A., Brown, P. N., Goodship, A. E., Lanyon, L. E., McCullagh, K. G., Perry, G. C., & Williams, I. F. (1983). A clinical and experimental study of tendon injury, healing and treatment in the horse. *Equine veterinary journal. Supplement, 1*, 1-43.
- Smith, M. R., & Wright, I. M. (2006). Noninfected tenosynovitis of the digital flexor tendon sheath: a retrospective analysis of 76 cases. *Equine Veterinary Journal, 38*(2), 134-141.
- Smith, R. K. (1992). A case of superficial digital flexor tendinitis: ultrasonographic examination and treatment with intralesional polysulphated glycosaminoglycans. *Equine Veterinary Education, 4*(6), 280-285.
- Smith, R. K. (2003). Pathophysiology of tendon injury. Em M. W. Ross, & S. J. Dyson, *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* (pp. 616-628). Philadelphia: Saunders.
- Smith, R. K. (2008a). Ultrasonographic imaging the flexor tendons in a clinical context. *Proceedings of the 10th International Congress of World Equine Veterinary Association: Moscow, Russia, 28 Janeiro -1 Setembro*.
- Smith, R. K. (2008b). Tendon and ligament injury. *Proceedings of the 54th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners: San Diego, California, 6-10 Dezembro*.
- Smith, R. K., & Eliashar, E. (2008). Size isn't everything: the importance of the hindlimb accessory ligament of the deep digital flexor tendon. *Equine Veterinary Education, 20*(12), 625-626.
- Smith, R. K., & Goodship, A. E. (2004). Tendon and ligament physiology. Em K. W. Hinchcliff, A. J. Kaneps, & R. J. Geor, *Equine Sports Medicine and Surgery: Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete* (pp. 130-151). Edinburgh: Saunders.
- Smith, R. K., & Heinegard, D. (2000). Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) levels in digital sheath synovial fluid and serum with tendon injury. *Equine veterinary journal, 32*(1), 52-58.
- Smith, R. K., Jones, R., & Webbon, P. M. (1994). The cross-sectional areas of normal equine digital flexor tendons determined ultrasonographically. *Equine Veterinary Journal, 26*(6), 460-465.
- Southwood, L. L., Stashak, T. S., Kainer, R. A., & Wrigley, R. H. (1999). Desmotomy of the accessory ligament of the superficial digital flexor tendon in the horse with use of a tenoscopic approach to the carpal sheath. *Veterinary Surgery, 28*(2), 99-105.
- Steed, D. L. (1998). Modifying the wound healing response with exogenous growth factors. *Clinics in plastic surgery, 25*(3), 397-405.
- Steel, C. M., Robertson, I. D., Thomas, J., & Yovich, J. V. (1999). Effect of topical rh-TGF- β 1 on second intention wound healing in horses. *Australian Veterinary Journal, 77*(11), 734-737.
- Steenfos, H. H. (1994). Growth factors and wound healing. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery, 28*(2), 95-105.

- Svendsen, M. N., Werther, K., Nielsen, H. J., & Kristjansen, P. E. (2002). VEGF and tumour angiogenesis. Impact of surgery, wound healing, inflammation and blood transfusion. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 37(4), 373-379.
- Svensjo, T., Yao, F., Pomahac, B., Winkler, T., & Eriksson, E. (2002). Cultured autologous fibroblasts augment epidermal repair. *Transplantation*, 73(7), 1033-1041.
- Tabata, Y. (2004). Tissue regeneration based on tissue engineering technology. *Congenital Anomalies*, 44(3), 111-124.
- Tamimi, F. M., Montalvo, S., Tresguerres, I., & Jerez, L. B. (2007). A comparative study of 2 methods for obtaining platelet-rich plasma. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 65(6), 1084-1093.
- Tang, J. B., Xu, Y., Ding, F., & Wang, X. T. (2003). Tendon healing in vitro: promotion of collagen gene expression by bFGF with NF-kappaB gene activation. *The Journal of hand surgery*, 28(2), 215-220.
- Tatullo, M., Marrelli, M., Falisi, G., Rastelli, C., Palmieri, F., Gargari, M., . . . Benagiano, V. (2016). Mechanical influence of tissue culture plates and extracellular matrix on mesenchymal stem cell behavior: A topical review. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 29 (1), 3-8.
- Taub, P. J., Silver, L., & Weinberg, H. (2000). Plastic surgical perspectives on vascular endothelial growth factor as gene therapy for angiogenesis. *Plastic and reconstructive surgery*, 105(3), 1034-1042.
- Ten Dijke, P., Hansen, P., Iwata, K. K., Pieler, C., & Foulkes, J. G. (1988). Identification of another member of the transforming growth factor type beta gene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(13), 4715-4719.
- Textor, J. (2011). Autologous biologic treatment for equine musculoskeletal injuries: platelet-rich plasma and IL-1 receptor antagonist protein. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 27(2), 275-298.
- Textor, J. A., & Tablin, F. (2013). Intra-articular use of a platelet-rich product in normal horses: clinical signs and cytologic responses. *Veterinary Surgery*, 42(5), 499-510.
- Textor, J. A., Nixon, A. J., & Fortier, L. A. (2003). Tenoscopic release of the equine carpal canal. *Veterinary Surgery*, 32(3), 278-284.
- Theoret, C. L., Barber, S. M., Moyana, T. N., & Gordon, J. R. (2001). Expression of transforming growth factor β 1, β 3, and basic fibroblast growth factor in full-thickness skin wounds of equine limbs and thorax. *Veterinary Surgery*, 30(3), 269-277.
- Thorpe, C. T., Udeze, C. P., Birch, H. L., Clegg, P. D., & Screen, H. R. (2013b). Capacity for sliding between tendon fascicles decreases with ageing in injury prone equine tendons: a possible mechanism for age-related tendinopathy? *European Cells and Materials*, 25, 48-60.
- Torricelli, P., Fini, M., Filardo, G., Tschon, M., Pischedda, M., Pacorini, A., . . . Giardino, R. (2011). Regenerative medicine for the treatment of musculoskeletal overuse injuries in competition horses. *International Orthopaedics*, 35(10), 1569-1576.

- Tóth, F., Schumacher, J., Schramme, M., Holder, T., Adair, H. S., & Donnel, R. L. (2008). Compressive damage to the deep branch of the lateral plantar nerve associated with lameness caused by proximal suspensory desmitis. *Vet. Surg.*, 37, 328-335.
- USDA. (2001). National economic cost of equine lameness, colic, and equine protozoal myeloencephalitis in the united states. *Information sheet No. N348.1001*. USDA, Fort Collins, CO: Animal and Plant Health Inspection Service.
- Van den Belt, A. J., Keg, P. R., & Dik, K. J. (1992). The correlation between the dose distribution of intratendinous fluid injections in the flexor tendons of the horse; a pilot study. *Vet Radiol Ultrasound*, 33, 120.
- van Schie, H. T., & Bakker, E. M. (2000). Structure-related echoes in ultrasonographic images of equine superficial digital flexor tendons. *American Journal of Veterinary Research*, 61(2), 202-209.
- van Schie, H. T., Bakker, E. M., & van Weeren, P. R. (1999). Ultrasonographic evaluation of equine tendons: a quantitative in vitro study of the effects of amplifier gain level, transducer-tilt, and transducer-displacement. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 40(2), 151-160.
- van Schie, H. T., Bakker, E. M., Cherdchutham, W., Jonker, A. M., van de Lest, C. H., & van Weeren, P. R. (2009). Monitoring of the repair process of surgically created lesions in equine superficial digital flexor tendons by use of computerized ultrasonography. *American Journal of Veterinary Research*, 70(1), 37-48.
- van Schie, H. T., Bakker, E. M., Jonker, A. M., & van Weeren, P. R. (2000). Ultrasonographic tissue characterization of equine superficial digital flexor tendons by means of gray level statistics. *American Journal of Veterinary Research*, 61(2), 210-219.
- Vogel, K. G., Keller, E. J., Lenhoff, R. J., Campbell, K., & Koob, T. J. (1986). Proteoglycan synthesis by fibroblast cultures initiated from regions of adult bovine tendon subjected to different mechanical forces. *European journal of cell biology*, 41(1), 102-112.
- Waselau, M., Sutter, W. W., Genovese, R. L., & Bertone, A. L. (2008). Intralesional injection of platelet-rich plasma followed by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(10), 1515-1520.
- Wasterlain , A. S., Braun, H. J., & Dragoo, J. L. (2012). Contents and formulations of platelet-rich plasma. *Operative Techniques in Orthopaedics*, 22(1), 33-42.
- Wells, A. (1999). EGF receptor. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 31(6), 637-643.
- Welsh, W. J. (2000). Autologous platelet gel: clinical function and usage in plastic surgery. *Cosmetic Derm*, 11, 13-19.
- Werpy, N. M., & Denoix, J. M. (2012). Imaging of the equine proximal suspensory ligament. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 28(3), 507-525.

- Werpy, N. M., Denoix, J. M., McIlwraith, C. W., & Frisbie, D. D. (2013). Comparison between standard ultrasonography, angle contrast ultrasonography, and magnetic resonance imaging characteristics of the normal equine proximal suspensory ligament. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 54(5), 536-547.
- Whitcomb, M. B. (2004). Ultrasonographic evaluation of the metacarpus, metatarsus, and pastern. *Clin. Tech. Equine Pract*, 3, 238-255.
- Wilderjans, H., Boussauw, B., Madder, K., & Simon, O. (2003). Tenosynovitis of the digital flexor tendon sheath and annular ligament constriction syndrome caused by longitudinal tears in the deep digital flexor tendon: a clinical and surgical report of 17 cases in warmblood horses. *Equine Veterinary Journal*, 35(3), 270-275.
- Williams, I. F., Heaton, A., & McCullagh, K. G. (1980). Cell morphology and collagen types in equine tendon scar. *Research in veterinary science*, 28(3), 302-310.
- Woo, S. L., Abramowitch, S. D., Kilger, R., & Liang, R. (2006). Biomechanics of knee ligaments: injury, healing, and repair. *Journal of biomechanics*, 39(1), 1-20.
- Woo, S. L., An, K. N., & Arnoczky, S. P. (1994). Anatomy, biology, and biomechanics of tendon, ligament, and meniscus. In S. Simon, *Orthopaedic Basic Science* (pp. 45-87). Rosemont: The American Academy of Orthopaedic Surgeons.
- Wroblewski, A. P., Mejia, H. A., & Wright, V. J. (2010). Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. *Operative Techniques in Orthopaedics*, 20(2), 98-105.
- Yoneno, K., Ohno, S., Tanimoto, K., Honda, K., Tanaka, N., Doi, T., . . . Tanne, K. (2005). Multidifferentiation potential of mesenchymal stem cells in three-dimensional collagen gel cultures. *Journal of Biomedical Material Research Part A*, 75(3), 733-741.
- Zapf, J., Schmid, C., & Froesch, E. R. (1984). Biological and immunological properties of insulin-like growth factors (igf) I e II. *Clinics in endocrinology and metabolism*, 13(1), 3-30.
- Zauscher, J. M., Estrada, R., Edinger, J., & Lischer, C. J. (2013). The proximal aspect of the suspensory ligament in the horse: how precise are ultrasonographic measurements? *Equine veterinary journal*, 45(2), 164-169.
- Zhang, F., Liu, H., Stile, F., Lei, M. P., Pang, Y., Oswald, T. M., . . . Lineaweaver, W. C. (2003). Effect of vascular endothelial growth factor on rat Achilles tendon healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 112(6), 1613-1619.
- Zimmerman, M. A., Selzman, G. H., & Harken, A. H. (1999). Surgical implications of the therapeutic angiogenesis. *Surgery*, 125(3), 243-249.